

**EIN SELEKTIONSVERSUCH MIT MÄUSEN  
AUF AKTIVITÄT CYTOTOXISCHER T-LYMPHOZYTEN  
GEGENÜBER P 815 MASTOCYTOMZELLEN**

**MAX SCHUBERT**

**1986**





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41547927\\_0058](https://archive.org/details/IA41547927_0058)



Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,  
Infektion- und Seuchenmedizin  
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München  
(Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c.mult.A.Mayr)  
und dem Institut für Tierzucht und Tierhygiene,  
Lehrstuhl für Tierzucht (Prof.Dr.H. Kräußlich)

Angefertigt unter der Leitung von

Prof. Dr. H.G. Buschmann

und

Prof.<sup>o</sup>Dr. J. Meyer

**Ein Selektionsversuch mit Mäusen  
auf Aktivität cytotoxischer T-Lymphozyten  
gegenüber P 815 Mastocytomzellen**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität  
München

von

**Max Schubert**

aus

Ichenhausen

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker

Referent: Prof. Dr. H.G. Buschmann

Korreferent: Prof. Dr. M.-A. Hasslinger

Tag der Promotion: 25. Juli 1986



## Inhaltsverzeichnis

|                                                      | Seite |
|------------------------------------------------------|-------|
| 1. Einleitung                                        | 1     |
| 2. Literaturübersicht                                | 2     |
| 2.1. Mechanismen der Immunität                       | 2     |
| 2.1.1. B-Lymphozyten                                 | 2     |
| 2.1.2. T-Lymphozyten                                 | 3     |
| 2.1.3. Makrophagen                                   | 5     |
| 2.1.4. Lymphozytenantigene                           | 7     |
| 2.1.5. Der Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC)    | 8     |
| 2.1.6. Das MHC-System der Maus                       | 9     |
| 2.2. Cytotoxizität                                   | 12    |
| 2.2.1. Cytotoxische T-Lymphozyten                    | 12    |
| 2.2.2. Null- oder K-Zellen                           | 17    |
| 2.2.3. NK (Natural Killer-) Zellen                   | 18    |
| 2.2.4. Makrophagenvermittelte Cytotoxizität          | 19    |
| 2.3. Tumorabwehr                                     | 20    |
| 2.3.1. Tumorummunologie                              | 20    |
| 2.3.2. Immunüberwachung                              | 23    |
| 2.4. Selektionsversuche auf immunologische Parameter | 24    |
| 3. Material und Methodik                             | 30    |
| 3.1. Versuchsaufbau                                  | 30    |
| 3.1.1. Versuchstiere                                 | 30    |
| 3.1.2. Umwelt                                        | 30    |
| 3.1.3. Versuchsdurchführung                          | 32    |
| 3.1.3.1. Zeitplan                                    | 33    |
| 3.1.3.2. Methodik                                    | 35    |
| 3.1.3.3. Tumormaterial                               | 35    |
| 3.1.3.4. Immunisierung der Mäuse                     | 35    |
| 3.1.3.5. Milzextirpation                             | 36    |
| 3.1.3.6. Der CTL-Test                                | 37    |

|        |                                                                                     |    |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 4.     | Ergebnisse                                                                          | 40 |
| 4.1.   | Ergebnisse der Vorversuche                                                          | 40 |
| 4.2.   | Ergebnisse der Hauptversuche                                                        | 42 |
| 4.2.1. | Abhängigkeit der CTL-Reaktion von der Stärke der<br>Markierung der Zielzellen (cpm) | 43 |
| 4.2.2. | Abhängigkeit der CTL-Reaktion vom Alter der Tiere                                   | 43 |
| 4.2.3. | Abhängigkeit der CTL-Reaktion vom Geschlecht der Tiere                              | 46 |
| 4.2.4. | Abhängigkeit der CTL-Reaktion von der Ascitesbildung                                | 48 |
| 4.2.5. | Entwicklung des Körpergewichts                                                      | 48 |
| 4.2.6. | Ergebnisse der Selektionsversuche                                                   | 56 |
| 5.     | Diskussion                                                                          | 61 |
| 6.     | Zusammenfassung                                                                     | 64 |
| 7.     | Summary                                                                             | 65 |
| 8.     | Literaturverzeichnis                                                                | 66 |

### Verwendete Abkürzungen

|      |                                                                       |
|------|-----------------------------------------------------------------------|
| ALS  | Anti-Lymphozyten Serum                                                |
| cpm  | Markierung der Zielzellen (counts per minute)                         |
| CTL  | Cytotoxische T-Lymphozyten                                            |
| HLA  | Human Leukozyte Antigens                                              |
| IR   | Immun-Response Gene                                                   |
| K    | Null- oder Killerzellen                                               |
| MHC  | Major Histocompatibility Complex (Hauptgewebeverträglichkeitskomplex) |
| MLC  | Mixed Lymphocyte Culture                                              |
| NK   | Natürliche Killerzellen                                               |
| sd   | Standardabweichung                                                    |
| TSTA | Tumorspezifische Transplantationsantigene                             |

| Tabellen                                                                          | Seite |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. Mechanismen der zellulären Cytotoxizität                                       | 14    |
| 2. Überblick über Rasse, Anzahl, Geschlecht und CTL-Index der Mäuse im Vorversuch | 41    |
| 3. Häufigkeitsverteilung der CTL-Aktivität in der Vorversuchsphase                | 41    |
| 4. Überblick über die Anzahl Testtiere und CTL-Index im Hauptversuch              | 42    |
| 5. Überblick über Alter, Anzahl und CTL-Index der Gesamtpopulation                | 44    |
| 6. Altersverteilung und CTL-Wert in den Generationen                              | 45    |
| 7. Überblick über die Testtiere, die am OP-Tag mit Asciteskontrolle erfaßt wurden | 52    |
| 8. Gewichtsverlauf ♂♂ und ♀♀ in der F0, F1+F2 (gepoolt), Hohe u. Niedere Linie    | 53    |
| 9. Gewichtsverlauf der ♂♂ in Abhängigkeit vom CTL-Index                           | 54    |
| 10. Gewichtsverlauf der ♀♀ in Abhängigkeit vom CTL-Index                          | 55    |
| 11. Selektionsergebnisse                                                          | 59    |
| 12. Signifikanztest                                                               | 60    |

# Abbildungen

|                                                                        | Seite |
|------------------------------------------------------------------------|-------|
| 1. Chromosom 17                                                        | 11    |
| 2. Cytotoxische Zellen                                                 | 13    |
| 3. Geschlechtsunterschied in der CTL-Aktivität in der Gesamtpopulation | 46    |
| 4. Geschlechtsunterschied in der CTL-Aktivität in der Niederen Linie   | 47    |
| 5. Geschlechtsunterschied in der CTL-Aktivität in der Hohen Linie      | 47    |
| 6. Gewichtsverlauf der ♂♂ in Abhängigkeit vom CTL-Wert                 | 49    |
| 7. Gewichtsverlauf der ♀♀ in Abhängigkeit vom CTL-Wert                 | 50    |
| 8. Gewichtsverlauf der ♂♂ F0, Hohe und Niedere Linie                   | 51    |
| 9. Gewichtsverlauf der ♀♀ F0, Hohe und Niedere Linie                   | 51    |
| 10. Selektionserfolg                                                   | 57    |
| 11. CTL-Aktivität beider Geschlechter                                  | 58    |
| 12. CTL-Aktivität der ♀♀                                               | 58    |
| 13. CTL-Aktivität der ♂♂                                               | 58    |

## 1. Einleitung

Ein Teil der körpereigenen Abwehrfunktionen besteht darin, fremde oder entartete eigene Zellsysteme zu erkennen und sich mit ihnen auseinanderzusetzen, sowie gegebenenfalls zu eliminieren.

Hierbei spielen Oberflächenstrukturen der Zellen eine grosse Rolle. Unterliegt nämlich eine Zelle einer von der Norm abweichenden Entwicklung z.B. im Gefolge einer Virusinfektion, dann werden auch die Oberflächenstrukturen der Zelle modifiziert und die körpereigenen immunkompetenten Zellen sind in der Lage, die eingetretenen Veränderungen zu erkennen und darauf zu reagieren. In den Erkennungsmechanismus einbezogen sind die sog. Histokompatibilitätsantigene (Gewebeverträglichkeitsantigene).

Diejenigen Zelltypen, die auf Veränderungen an den Oberflächenstrukturen von Zellen reagieren, sind T-Lymphozyten.

In der Tumorforschung mißt man eine besondere Bedeutung der Aktivität der cytotoxischen T-Lymphozyten zu.

In der folgenden Arbeit sollte versucht werden, Mäuse auf die Aktivität cytotoxischer T-Lymphozyten gegenüber P 815 Mastocytomzellen zu selektieren.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Mechanismen der Immunität

Dringen pathogene Erreger in einen Warmbluterorganismus ein, kann dieser mit einem stufenweise sich aufbauendem Abwehrsystem darauf antworten. Dies sind zunächst unspezifische Abwehrmechanismen wie Schleimhautresistenz, Interferon u.s.w., es folgen darauf die spezifischen Abwehrvorgänge durch die einsetzende Immunreaktion.

Die Träger dieser spezifischen Abwehrmechanismen sind die Immunzellen.

#### 2.1.1. B-Lymphozyten

Die B-Lymphozyten entwickeln sich aus Stammzellen und reifen unabhängig von Antigenen (Claman et al., 1972, Cradock et al., 1971, Miller et al., 1971). Vorläufer von B-Zellen sind vor der Geburt in der Leber und Milz zu finden, nach der Geburt stammen die B-Zellen praktisch ausschließlich aus dem Knochenmark. Die B-Zellen differenzieren sich vermutlich im lymphatischen Gewebe von Darm und Tonsillen aus den Stammzellen in eine frühe, unreife Zelle. Erst auf einen Antigenreiz hin entwickeln sie sich zur antikörpersezernierenden Plasmazelle.

Diese synthetisieren die verschiedenen Immunglobulinklassen, die als humorale Antikörper fungieren (Allison, 1974).

Thymusabhängige Antigene benötigen T-Zellen, damit es zu einer Stimulation der B-Zellen kommt. B-Zellen besitzen Oberflächenmoleküle, die an zellulären Interaktionen beteiligt sind oder als Rezeptoren für verschiedene Mediatoren dienen.

Nach Benacerraf und Unanue (1982) sind bisher folgende identifiziert:

1. Ig (hauptsächlich IgM und IgD, einige IgG)
2. C3-Rezeptoren. Bis zu zwei Drittel der B-Zellen besitzen an ihrer Oberfläche einen Rezeptor für C3b, der sie dazu befähigt, mit Antigen-Antikörperkomplexen die Komplement gebunden haben zu reagieren.
3. Fc-Rezeptoren (Oberflächenstrukturen die spezifisch das Fc-Fragment des IgG binden können)
4. Histokompatibilitätsantigene (B-Zellen tragen Oberflächenantigene, die vom MHC kodiert werden) (Klein, 1975)

#### 2.1.2. T-Lymphozyten

Wie die B-Zellen als Träger der humoralen Immunität stammen die T-Zellen, verantwortlich für die zelluläre Immunität, aus dem lymphopoetischen System. Die Herkunft dieser beiden Lymphozytenklassen ist eine gemeinsame Stammzelle, der Weg der Reifung ist jedoch unterschiedlich. (Claman et al., 1972, Cradock et al., 1971, Miller, 1971).

Der T-Lymphozyt wandert vom Knochenmark als Pre-T Lymphozyt zum Thymus, reift dort, zirkuliert und lokalisiert sich dann

in peripheren Immunitätsorganen wie spezifischen Bezirken der Milz und der Lymphknoten. Die reifen T-Lymphozyten sind eine heterogene Zellpopulation und werden entsprechend ihrer Funktion zu Gruppen zusammengefaßt.

Im Mäusesystem werden die T-Lymphozyten nach dem Antigentyp Lyt 1,2 und 3 (Lyt=T-Lymphocyte associated) in drei Hauptgruppen unterteilt (Canter et al., 1975):

Diejenigen Lymphozyten, die Lyt 1+,2+,3+ tragen, besitzen eine kurze Lebenszeit und man nimmt an, daß sie die Vorstufe für zukünftige stabilere Untergruppen vom Typ Lyt 1-,2+,3+ und Lyt 1+,2-,3- sind (Mc Connell et al., 1981). Dabei sind T-Zellen, die alle drei Lyt-Marker tragen an der Abstoßung von Allotransplantaten beteiligt, diejenigen, die Lyt 1+,23- tragen sind Helferzellen bei der Antikörperproduktion von B-Zellen und ebenso Helferzellen für andere T-Zellen, die Suppressorfunktion ausüben.

T-Zellen vom Antigentyp Lyt 1-,23+ erfüllen sowohl cytotoxische als auch suppressive Funktionen (Reinherz et al., 1980). Benacerraf und Unanue (1982) unterscheiden 4 Funktionsgruppen von T-Lymphozyten:

1. T-Zellen mit regulatorischer Funktion auf die Aktivität von B-Zellen und anderen T-Zellen, sowohl im positiven Sinne als Helferzellen, als auch negativ als Suppressorzellen.
2. T-Zellen, die an Reaktionen der zellulären Immunität beteiligt sind, z.B. Allergie vom Spättyp (delayed type hypersensitivity).

Diese T-Zellen bilden Moleküle, die eine Entzündung direkt hervorrufen und andere Zellen (bes. Makrophagen) aktivieren können. Diese Moleküle werden Lymphozytenmediatoren oder Lymphokine genannt.

3. T-Zellen, die an der Transplantationsimmunität beteiligt sind und mitverantwortlich sind bei der Abstoßung von Allotransplantaten und an der "graft-versus-host" Reaktion. Diese T-Zellen reagieren mit Gewebebestandteilen oder Zellen, die fremde Histokompatibilitätsantigene tragen.
4. T-Zellen mit cytotoxischer Funktion (siehe 2.2.1.)

### 2.1.3. Makrophagen

Makrophagen entwickeln sich ebenfalls aus Stammzellen des Knochenmarks, zirkulieren zunächst im Blut, dringen darauf ins Gewebe ein und differenzieren sich dort zu aktivierten Effektorzellen. Dieser Prozeß gliedert sich in mehrere Schritte und bei jedem Schritt werden durch individuelle Substanzen entsprechende Veränderungen induziert. Fehlt eine Stimulation mangels Entzündung, unterliegen Monozyten einer gewissen morphologischen und biochemischen Veränderung und werden zu ortsständigen Makrophagen. Stimuliert durch eine Entzündung nehmen Monozyten und Makrophagen schnell an Größe zu, verbreiten sich schneller und besitzen eine Vielzahl von Funktionsmöglichkeiten. Verantwortlich dafür sind z.B. der Bestandteil B des Properdinsystems (Gotze et al., 1979), Makrophagenstimulierungsprotein (Leonard et al., 1978), Bakterienendotoxin,

Plasminogenaktivator (Vassali et al., 1977) und Makrophagenwachstumsfaktor. Die Umwandlung von Monozyten zu Makrophagen bedarf einer großen Zahl von Schritten und Signalen; diese Stimulantien induzieren ebenfalls die Sekretion von Makrophagenprodukten wie Fermenten und verschiedenen zellstimulierenden Enzymen. Die Produkte der Makrophagen werden Monokine genannt und aktivieren Lymphozyten. Aktivierter Makrophagen entstehen durch die Stimulation aktivierter Lymphozyten (meist T-Lymphozyten) (North, 1973). Die Aktivierung von Makrophagen erfolgt unspezifisch, und aktivierte Makrophagen sind in der Lage, Tumorzellen sowie intrazelluläre Parasiten abzutöten (Meir Kende, 1982).

Der Makrophagenaktivierungsfaktor kann sowohl die Zunahme der Fc-Rezeptoren bewirken (Vogel et al., 1979), als auch die Phagozytoserate über C3b-Rezeptoren erhöhen (Griffin 1979).

Die Funktion von Makrophagen kann man in vier Hauptaktivitäten einteilen (Meir Kende, 1982):

1. Interaktion und Einbeziehung jeglichen fremden Materials in den Wirkungsbereich mittels Phagozytose (Eisbach, 1980, Rosenthal, 1976, Potter, 1981)
2. Steigerung der Immunantwort durch:
  - a) Antigenpräsentation: Antigene befinden sich lange Zeit in Makrophagen im Mark der Lymphknoten (Nossal et al., 1967); Makrophagen präsentieren den Lymphozyten jegliche Form von Antigen einschließlich Erythrozyten, Mikroorganismen und

Tumorzellen (Treves et al., 1976).

b) Freisetzung von B-Zellaktivierungsfaktor

c) Freisetzung von T-Zellaktivierungsfaktor (Mizel, 1980)

3. Effektorzellfunktion mit der Möglichkeit, Mikroorganismen und Tumorzellen abzutöten (Nelson, 1976) (siehe 2.2.4.)
4. Suppressorfunktion: Hyperaktivierte Makrophagen unterdrücken die Aktivierung von Lymphozyten (Allison, 1978).

#### 2.1.4. Lymphozytenantigene

Lymphozytenantigene kann man sowohl beim Menschen, als auch beim Tier nachweisen (Goetze, 1977). Komplexe immungenetische Systeme, z.B. das H-2 System der Maus (Klein, 1975) sind für ihren ausgeprägten Polymorphismus verantwortlich. Die für die Gewebeverträglichkeit entscheidenden genetischen Systeme sind durch Antigene an der Lymphozytenoberfläche markiert. Diesen Histokompatibilitätsantigenen kommt eine große biologische Bedeutung zu. Sie wirken als Transplantationsantigene und man fand weiterhin, daß Strukturproteine der Zellmembran durch Gene kontrolliert werden, die im Bereich des MHC lokalisiert sind. Diese spielen eine entscheidende Rolle bei immunologischen Prozessen wie der Funktion der Lymphozyten, der Empfänglichkeit gegenüber bestimmten Krankheiten (Klein, 1975) sowie bei der Immunantwort (Mc Devitt et al., 1969, 1974).

#### 2.1.5. Der Haupthistokompatibilitätskomplex (MHC)

Die Untersuchungen von Abstoßungsreaktionen bei Transplantationsversuchen und die Beobachtung, daß eine Abstoßungsreaktion bei eineiigen Zwillingen, sowie bei stark ingezüchteten Mäuselinien unterblieb, führte zur Entdeckung des MHC. Snell und Mitarbeiter (1976) untersuchten an kongenen Inzuchtmausstämmen verschiedene Histokompatibilitäts-Loci.

Der H2-Locus war für die Haut- und Tumor-Abstoßung verantwortlich und wurde in Abgrenzung zu schwächeren H-Loci als Haupthistokompatibilitätslocus (MHC) bezeichnet.

Dausset und Mitarbeiter (1977) entdeckten kurz darauf, daß beim Menschen und bei der Maus zwischen Gewebe-Alloantigenen, die durch serologische Methoden definiert wurden, und solchen Antigenen, die für die Transplantatabstoßung verantwortlich waren, eine Beziehung besteht. Daraus resultierte die Entdeckung des Haupthistokompatibilitätskomplexes beim Menschen, des HLA (human leucozyte antigens)-komplexes.

Das HLA-System besitzt eine Reihe von eng aneinander gebundenen Genorten mit hoch polymorphen Genen, welche Zellmembrandeterminanten kodieren. Die Histokompatibilitätsantigene können also als die phänotypische Ausprägung eines Komplexes von multiplen Allelen verstanden werden, die sehr eng beieinander auf einer schmalen Region eines autosomalen Chromosoms lokalisiert sind (Götze, 1977).

#### 2.1.6. Das MHC-System der Maus

Bei der Maus ist der H2-Komplex auf dem Chromosom 17 lokalisiert. Er enthält mindestens neun verschiedene Genloci, die auf fünf Hauptregionen K, I, S, G und D entfallen.

Die K- und D-Regionen enthalten die H2-K- und H2D-Marker, die Zellmembran-Antigene determinieren. Die Genregionen K und D determinieren die wichtigsten Gewebeverträglichkeitsantigene. Weiterhin sind die K- und D-Gen-Produkte bei der zellulären Immunität durch cytotoxische T-Zellen gegen virusinfizierte Zellen oder gegen Zellen, die tumorspezifische Antigene tragen, von entscheidender Bedeutung (Zinkernagel und Doherty, 1974).

Die S-Region kodiert einige Komponenten des Komplementsystems. Die I-Region des H2-Systems enthält verschiedene IR-Gene und regelt die Immunantwort und die Immunsuppression. Sie spielt auch bei der Kooperation zwischen Makrophagen und T-Zellen (Rosenthal et al., 1978), T- und B-Lymphozyten (Katz und Benacerraf, 1976), sowie bei der Produktion von löslichen Helfer- und Suppressor-Faktoren (Tada et al., 1976, Mozes und Isac, 1976) eine Rolle. Durch die I-Region wird auch die Synthese von Zelloberflächen-Glykoproteinen, die als Ia-Antigene auf B-Zellen und Makrophagen bekannt sind, bestimmt (Klein, 1979). Die enge Kopplung der verschiedenen Genorte, die charakteristische Immunreaktionen kodieren, spricht dafür, daß diese Gene ihre Wirkung gemeinsam entfalten.

Für eine weitere biologische Bedeutung des MHC-Systems spricht auch, daß Mäuse bei freier Partnerwahl sich mit H2 verträglichen Tieren bevorzugt paaren (Tizard, 1981).

Es gibt drei Testsysteme auf Histokompatibilitätsantigene:

1. Man stellt spezifische Antiseren gegen bestimmte Histokompatibilitätsantigene her und prüft dann ihre Wirkung auf kernhaltige Zellen in Gegenwart von Komplement. So kann man dann mit zahlreichen Antiseren den Antigentyp von Donor und potentielltem Recipient ermitteln.
2. Man injiziert dem Donor Lymphozyten des Recipienten in die Haut. Stimmen beide in ihrem MHC-Antigentyp überein, kommt es zu keiner Reaktion. Bestehen jedoch Unverträglichkeiten zwischen beiden, kommt es durch die Reaktion der injizierten Lymphozyten zu einer entzündlichen Hautreaktion. Dieser Test wird als "normaler Lymphozytentransfertest" bezeichnet.
3. "Gemischte Lymphozytenkultur" (Mixed lymphocyte culture = MLC). Dabei werden Lymphozyten von Recipient und Donor vermischt, und je nach dem Grad der Unverträglichkeit der beiden Zellsysteme kommt es zu einer Stimulation, die durch die Aufnahme von markiertem ( $^3\text{H}$ )-Thymidin in die Zellen gemessen wird.

Diese Versuche stellen bei Organtransplantationen eine wichtige Voraussetzung für den Erfolg der Operation dar.

Gardner et al., (1975) überprüften die Rolle des H2 Genkomplexes gegenüber Ektromelia virusinfizierten Targetzellen.

Sie immunisierten Inzuchtmäuse und testeten nach 6 Tagen deren Milzzellen. Dabei fanden sie, daß eine spezifische Cytotoxizität nur eintrat, wenn Donor (der Immunzellen) und Targetzellen am H2 Locus gleich oder teilweise identisch waren.

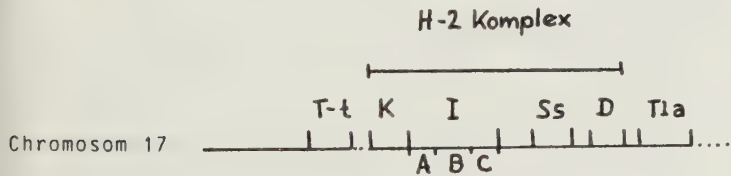


Abb. 1 Das H2-System der Maus (nach Riott 1977)

## 2.2. Cytotoxizität

Die zellvermittelte Cytotoxizität stellt einen wichtigen Teil der Abwehrmechanismen des Körpers dar. Sie basiert auf der Existenz und der Aktivität mehrerer sogenannter Effektorzellen in einem gesunden Individuum. Diese Effektorzellpopulation wird repräsentiert durch mindestens fünf verschiedene Zelltypen: cytotoxische T-Lymphozyten ( CTL ), Null- oder Killerzellen (K), Natürliche oder Spontane Killerzellen (NK), ferner cytotoxische Makrophagen und schließlich B-Lymphozyten als Lieferanten spezifischer gegen Zellantigene gerichteter Antikörper. Der Mechanismus dieser Zellen ist in Abb. 2 schematisch dargestellt (nach Tizard, 1981). Eine Übersicht der Mechanismen der zellulären Cytotoxizität ist in Tabelle 1 dargestellt.

### 2.2.1. Cytotoxische T-Lymphozyten

Cytotoxische T-Lymphozyten sind hauptsächlich im Mäusesystem untersucht worden. Im Prinzip können diese durch jede als fremd angesehene Oberflächenstruktur induziert werden. Besonders wirksam sind hier:

- a) Allogene Lymphozyten;
- b) Syngene Zellen, die tumorspezifische Antigene tragen;
- c) Syngene Zellen, die mit Virus infiziert sind
- d) Syngene Zellen, die Haptene tragen;

Diese cytotoxischen Zellen, die sowohl in vivo als auch in vitro stimuliert werden können, werden unterschieden in solche, die den Lyt 2,3+ Phänotyp besitzen und spezifisch für Alloanti-

Abb. 2:

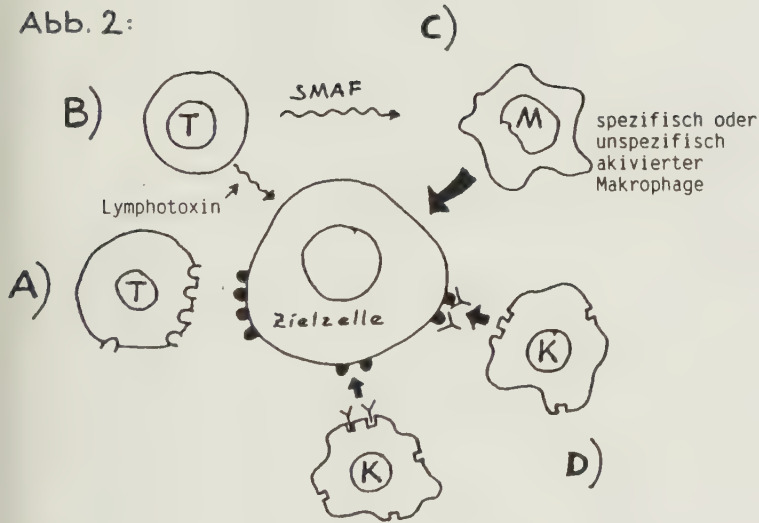


Abb. 2 Mechanismen der zellvermittelten Cytotoxizität  
(Tizard, 1981)

- A) T-zellvermittelte direkte Cytotoxizität
- B) Cytotoxizität durch cytotox. Faktoren, die von T-Zellen freigesetzt werden
- C) Abtötung von Zielzellen durch Makrophagen, die durch T-zellenabhängige Lymphokine aktiviert wurden
- D) Abtötung von Zielzellen durch cytotox. Zellen, die entweder Immunkomplexe tragen oder sich an antikörperbeladene Zielzellen mittels freier Fc-Rezeptoren binden

Tabelle 1      Mechanismen der zellulären Cytotoxizität (nach Tizard, 1981)

| Phänomen                                                                                                                       | Bezeichnung der Effektorzellen | Thymus-abhängigkeit | Beteiligung von Antikörpern | Funktion                                                                                                                                                                         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|---------------------|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <u>A. Lymphozytenvermittelte Cytotoxizität</u>                                                                                 |                                |                     |                             |                                                                                                                                                                                  |
| 1. Von Antikörpern unabhängige Cytotoxizität durch sensibilis. T-Zellen                                                        | CTL                            | ja                  | nein                        | Schutz des Organismus vor allogenen Zellen und vor eigenen Zellen, deren Oberflächenstruktur durch Viren, Tumortransformation oder Addition eines Haptens modifiziert worden ist |
| 2. Antikörpervermittelte (IgG abhängige) Cytotoxizität durch normale Lymphozyten ("Null"-Zellen)                               | K                              | teilweise           | ja                          | Auftreten bei einer großen Zahl entzündlicher Prozesse                                                                                                                           |
| 3. "Natürliche" Cytotoxizität durch Lymphozyten (unreife T-Zellen?) normaler, d.h. nicht künstlich sensibilisierter Individuen | NK                             | nein                | teilweise                   | Thymus-unabhängiger Schutz des Organismus vor Tumorentstehung                                                                                                                    |
| <u>B. Makrophagenvermittelte Cytotoxizität</u>                                                                                 |                                |                     |                             |                                                                                                                                                                                  |
| 1. Cytotoxizität durch Kontakt mit den Zielzellen nach Einwirkung von Aktivierungsfaktoren aus T-Zellen (MAF)                  |                                | ja                  | nein                        | Cytolytischer Effekt auf Tumorzellen, wahrscheinlich aufgrund von C3a-Bildung                                                                                                    |
| 2. Cytotoxizität durch Antikörper, die mittels des Fc-Rezeptors an Makrophagen gebunden wurden                                 |                                | nein                | ja                          | Schutz des Organismus vor allogenen Zellen                                                                                                                                       |

gene sind und in solche, die den Lyt 1+,2,3+ Phänotyp besitzen und speziell gegen Tumorzellen wirken. Sie sind Thymus abhängig, eine Beteiligung von Antikörpern ist nicht notwendig. Der genaue Mechanismus der Cytolyse ist noch ungeklärt, aber die Tatsache, daß sich die cytotoxische Wirkung gegen die Zelle richtet, die das Antigen trägt, spricht für einen direkten Kontakt (Gardener et al., 1975).

Man unterscheidet drei Stadien der Cytolyse (nach Keller, 1981):

1. Die spezifische Interaktion zwischen Paratop und Epitop führt zum engen Kontakt zwischen Effektorzelle und Zielzelle. Diese Adhärenz dauert wenige Minuten, ist abhängig von der Temperatur, der Anwesenheit von  $Mg^{++}$ -Ionen und kann speziell durch Cytochalisin (Hemmung der ATP-Synthese), sowie durch Lokalanästhetika gehemmt werden.
2. Anschließend kommt es zum tödlichen Stoß, während dessen die Effektorzelle der Zielzelle eine irreversible Schädigung zufügt. Dieser Schritt ist ebenfalls temperaturabhängig und erfordert die Anwesenheit von  $Ca^{++}$ -Ionen. Er dauert ca. 10-15 min..
3. Der letzte Teil besteht in der Lyse der Zelle, dauert einige Stunden und ist nicht mehr von der Anwesenheit cytotoxischer T-Zellen abhängig.

Burakoff et al.(1984) untersuchten drei Phänomene der CTL-Antwort:

1. Die Spezifität der CTL-Antwort
2. Die Regulation der CTL-Antwort
3. Die Effektorantigene, die von den CTL-s bei Interaktion mit Zielzellen benutzt werden.

Durch die Verwendung von Liposomen kamen sie zu folgendem Ergebnis:

- zu 1. Allein allogene MHC-Antigene stimulieren CTL-s oder werden von diesen erkannt.
- zu 2. Virale und MHC-Antigene müssen, wenn sie nicht direkten Kontakt haben, doch wenigstens sehr eng mit CTL-s verbunden sein.
- zu 3. HLA-Antigene sind in hohem Maße für die Immunreaktion von CTL-s verantwortlich.

Zusammenfassend gewannen Burakoff et al.(1984) durch die Untersuchung von Liposomen Einblick in die regulatorische Interaktion zwischen T-Helferzelle und CTL-s.

Die offensichtliche Voraussetzung der genetischen Verwandtschaft zwischen CTL und den Zielzellen wird "Genetische Restriktion" genannt (Zinkernagel und Doherty, 1974). Die Interaktion zwischen CTL und Zielzellen erfordert, daß diese K- oder D-Spezifität besitzen. Diese Regionen (K und D) kodieren die serologisch definierten Haupthistokompatibilitätsantigene, die besonders für die Transplantatabstoßung verantwortlich sind.

Eine Übereinstimmung mit der I-Region ist für eine Lysis nicht erforderlich. Die Verknüpfung von CTL und MHC-Genprodukten der Zelloberfläche von Zielzellen hat zu zwei Hypothesen der T-Zell/Zielzellinteraktion geführt (Zinkernagel und Doherty, 1974, 1975, 1976):

Die "dual recognition" oder "doppelte Erkennung" geht von der Voraussetzung aus, daß T-Zellen zwei voneinander unabhängige Rezeptoren besitzen, nämlich einen, der Fremdartigen erkennt und einen der MHC-Strukturen erkennt.

Die "single recognition" oder "einfache Erkennung" besagt, daß T-Zellen einen Receptor besitzen, der ein neues Antigen erkennt durch die Kombination von Eigen- und Fremdantigen. Dieses Modell wird auch "altered self" genannt.

#### 2.2.2. Null- oder K-Zellen

Eine weitere Form der durch Lymphozyten vermittelten Cytotoxizität stellen die Null- oder K-Zellen dar (Greenberg et al., 1973). Sie treten hauptsächlich bei einer großen Zahl entzündlicher Prozesse auf und wirken auch gegenüber bestimmten Tumoren, besonders Leukämien. Diese sind weder zur Phagozytose befähigt, noch haben sie Eigenschaften von T- oder B-Lymphozyten (Hansson et al., 1978). Ihre Abstammung vom myeloischen oder lymphatischen System, oder von beiden, ist nicht exakt geklärt. Wegen des Fehlens der für Lymphozyten charakteristischen Oberflächenmerkmale werden sie Null-Zellen genannt (Sell, 1980; Brier et al., 1975; Saijo et al., 1982). Ihre cytotoxische Fähigkeit können sie nur entwickeln im Verein mit Antikörpern (IgG).

Über ihre Fc-Receptoren können sie mit Zellen, deren Oberflächenantigene mit entsprechenden Antikörpern reagiert haben, in sehr engen Kontakt treten und diese abtöten. Augenscheinlich sind die Null- oder K-Zellen nicht in der Lage, den für die zellvermittelte Cytotoxizität benötigten Antikörper selbst zu synthetisieren (Kiessling et al., 1975). Dieser wird ihnen wahrscheinlich von den B-Zellen geliefert. Ihr cytotoxischer Mechanismus ist weitgehend unbekannt, ebenfalls fehlen Anzeichen für die Entwicklung eines immunologischen Gedächtnisses. Auch ist ihre in vivo Funktion noch unklar.

### 2.2.3. NK (Natural Killer-) Zellen

Natürliche Killerzellen, eine dritte Form lymphoider Effektorzellen wurden bei Mensch und Tier nachgewiesen (Burton et al., 1978, Callewaert et al., 1978). Kiessling, Klein et al., (1975) untersuchten diese speziell in ihrer Aktivität gegen Moloney-Leukämie-Zellen von Mäusen. Dieser Zelltyp erschien spontan, kommt hauptsächlich in Milzen normaler, junger Mäuse vor und hatte in anderen Lymphorganen geringere Aktivität. Der Versuch, diese Zellen in die Reihe der zur Cytotoxizität befähigten einzuordnen, mißlang. Kiessling, Klein et al. (1975) konnten lediglich zeigen, daß sie die Morphologie kleiner Lymphozyten besaßen, sich aber nicht als T- oder B-Lymphozyten klassifizieren ließen. Durch Oberflächenreceptoren sind sie in der Lage, andere Zelltypen insbesondere gewisse Tumorzelllinien spontan, d.h. ohne vorherigen Kontakt oder Immunisierung abzutöten (Niaudet, et al.,

1979). Ihre Herkunft ist weiterhin unklar, es wird aber vermutet, daß es sich um Vorläufer von T-Zellen handelt.

#### 2.2.4. Makrophagenvermittelte Cytotoxizität

Makrophagen entfalten ebenfalls eine kontaktgebundene Cytotoxizität. Besonders im Hinblick auf das Tumorwachstum sind sie in der Lage, cytostatische oder cytotoxische Wirkung zu vermitteln (Hibbs et al., 1972; Saijo et al., 1980; Kaplan et al., 1974). Man unterscheidet zwei Arten der Cytolyse durch Makrophagen: eine spontane, natürliche und eine durch Antikörper vermittelte (Henney, 1977; Hibbs et al., 1972, 1976; Kramer et al., 1972).

1. Bei der spontanen, natürlichen Cytotoxizität sind die Makrophagen in der Lage, ohne vorherige Bekanntschaft mit Tumorzellen diese abzutöten (Kramer u. Granger, 1972). Sie können dabei durch Einwirkung von Lymphokinen, wie MIF (Migration-Inhibitions-Faktor), MAF (Makrophagen-Aktivierungs-Faktor), Endotoxinen und Applikation von BCG aktiviert werden (Parr et al., 1973; Hibbs et al., 1972; Cleveland, 1974).
2. Bei der durch Antikörper vermittelten Cytotoxizität kommt es zu einer Bindung zwischen den antikörperbeladenen allogenen Zielzellen und den Fc-Rezeptoren der Makrophagen (Henney, 1977).

## 2.3. Tumorabwehr

### 2.3.1. Tumorimmunologie

Zwischen einem Organismus und einem Tumor besteht eine wechselseitige Beziehung. So kann der Wirtsorganismus das Tumorstadium und der Tumor die Reaktionsfähigkeit des Wirtsorganismus beeinflussen. Solange der Tumor klein ist, beschränken sich die gegenseitigen Einflüsse auf einen lokalen Rahmen. Kommt es jedoch zu einer Vaskularisierung des Tumors und zur Invasion des Tumors in Lymph- und Blutgefäße des Wirtes, generalisiert sich das Geschehen. Voraussetzung für eine Immunantwort ist, daß das spezifische Immunsystem entartete Zellen von den normalen körpereigenen Zellen unterscheiden kann.

Versuche zum Nachweis der Immunogenität von Tumoren

Wurden schon seit Anfang des Jahrhunderts durchgeführt. Erste Beweise über eine syngene Immunität gegen chemisch induzierte Tumoren erbrachte folgender Versuch (Benacerraf, Unanue, 1982). Werden bei genetisch einheitlichen Inzuchtmäusen kleine Sarkomstücke von einer Maus auf die andere übertragen, und läßt man den Tumor eine Zeit lang wachsen, liegt er dann so, daß er abstirbt, zeigt sich:

Bei einer späteren Neuimplantation des gleichen Sarkoms waren die nun geheilten Tiere in der Lage, dieses Sarkom abzustoßen. Diese Fähigkeit bestand jedoch gegenüber einem anderen Tumorgewebe nicht (Benacerraf, Unanue, 1982). Da aber nach einer Immunisierung mit syngenem Hauttransplantaten oder mit normalen, aus Organen stammenden Zellen die Mäuse nicht vor einem Tumor

geschützt waren, der aus den gleichen Spendertieren stammte, schloß man, daß Tumoren charakteristische sog. tumorspezifische Transplantationsantigene (TSTA) besitzen müssen (Keller, 1981). Weiterhin zeigten Klein und Mitarbeiter, 1977, daß der Schutz vor Tumoren nicht auf genetischen Unterschieden zwischen Tumorspender und Empfänger beruht, da sie Tumorträger gegen ihre eigenen Tumoren immunisieren konnten.

Chemisch induzierte Tumoren unterscheiden sich antigenmäßig von allen anderen Tumoren auch innerhalb des gleichen Inzuchtstammes. Dies ließ sich durch Kreuzimmunisierungs- und Transplantationsexperimente zeigen. Man fand, daß sich Tumoren, die im gleichen Tier und mit der gleichen Chemikalie induziert wurden, immunologisch unterscheiden können. Ja sogar in ein und demselben Tumor, der durch eine einzige Chemikalie hervorgerufen wurde, können Subpopulationen von Zellen mit verschiedenem Antigenmuster vorkommen (Tizard, 1981). Neuere Untersuchungen haben bestätigt, daß sich die starken tumorspezifischen Transplantationsantigene chemisch induzierter Tumoren immer unterscheiden, im Gegensatz zu schwachen TSTA, die häufig ähnlich aufgebaut sein können.

Virusinduzierte Tumoren dagegen besitzen auf ihrer Zelloberfläche nicht nur viruseigene, sondern auch durch das Virus induzierte tumorspezifische Antigene (Klein, 1977) und unterscheiden sich nicht voneinander, falls sie durch ein bestimmtes Virus oder eine Virusfamilie erzeugt wurden. Tumorzellen tragen außer den TSTA ebenfalls TAA ("tumorassoziierte Antigene"), die eine Abstoßungs-

reaktion auslösen können. Zu diesen TAA zählen auch "onkofötale" Antigene, die embryonale oder fötale Zellprodukte darstellen. Diese können bei Erwachsenen an bösartig transformierten Zellen wieder auftreten (Richards, 1980). Zu diesen gehört zum Beispiel das  $\alpha_1$ -Fetoprotein, das vor allem bei Leberzellkarzinomen reichlich produziert wird und in der Klinik als Indikator einer Tumorerkrankung dienen kann (Gold und Friedman, 1965; Richards, 1980).

Ein weiterer Antigentyp wird als T-Antigen bezeichnet. Es ist ein virusspezifisches Antigen, hat aber keine Oberflächenantigenität. Der Wirtsorganismus entwickelt dagegen spezifische Antikörper. Da es aber auf das Kerninnere von Tumorzellen beschränkt ist, spielt es bei der immunspezifischen Elimination der Zellen eine untergeordnete Rolle und unterscheidet sich insofern von den TSTA (Keller, 1981).

Beim Tier zeigten vor allem chemisch induzierte Sarkome und Karzinome (Reif u. Tomas, 1980; Baldwin, 1970; Prehn, 1975), sowie viral induzierte Tumoren (Lindemann und Klein, 1967; Klein, 1977) eine starke Immunogenität. So sind zum Beispiel durch Moloney-Virus verursachte Lymphome stark immunogen. Durch Gross-Virus induzierte Tumoren sind dagegen nur schwach immunogen. Die Immunogenität eines Tumors ist aber nicht allein für die Stärke der gegen ihn gerichteten Immunreaktion ausschlaggebend. Genauso wichtig ist, wie eng der Tumor mit den Komponenten des Immunapparates in Kontakt kommt.

### 2.3.2. Immunüberwachung ("Immune surveillance")

Der Nachweis tumorassoziiierter Antigene und einer spezifisch gegen sie gerichtete Immunität schaffte die Grundlage für die Entwicklung der Immunüberwachungstheorie (Burnet, 1970). Besonders die T-Zellaktivität ist danach zur Verhinderung einer malignen Entartung ausgestattet mit der Fähigkeit, Klone maligner Zellen frühzeitig zu erkennen und auszuschneiden, sofern sie sich antigenmäßig genügend vom normalen Gewebe unterscheiden. Ein bestehender Tumor spricht demnach schon für ein Versagen der Immunüberwachung. Experimentelle Beobachtungen haben aber gezeigt, daß in vielen Fällen keine Beziehung zwischen Tumoresistenz und T-Zellreaktivität besteht. So unterscheiden sich durch Anti-Lymphozyten Serum (ALS) behandelte und aufgrund eines angeborenen Thymus-Mangels immunsupprimierte Mäuse (Nackte nu/nu Mäuse) in der Häufigkeit spontan entstandener und chemisch induzierter Tumoren nicht von solchen Tieren, die immunologisch vollkommen intakt sind. Andererseits waren immunsupprimierte Tiere gegen Tumoren, die durch onkogene Viren erzeugt wurden, viel anfälliger als immunologisch intakte Tiere (Benacerraf u. Unanue, 1982). Bei Mäusen, die mit Mäuse-Sarkom-Virus behandelt wurden, schien das progressive Tumorstadium umgekehrt proportional zur Stärke der Immunantwort gegen den Tumor zu verlaufen. Weiterhin gibt es sogar eine natürliche Immunität gegenüber bestimmten virusinduzierten Tumoren, die mit der Tumoresistenz zu korrelieren scheint (Benacerraf, Unanue, 1982).

#### 2.4. Selektionsversuche auf immunologische Parameter

Bei der Aufklärung des Zusammenwirkens der für eine Immunantwort beteiligten Zellsysteme, nämlich der Makrophagen, B- und T-Lymphozyten, waren Selektionsversuche auf Immunparameter bei Mäusen von großer Bedeutung. Es war zwar bekannt, daß Resistenzen von Laboratoriumsmäusen gegenüber folgenden Infektionen existieren und genetisch bedingt sind:

Bacillus piliformis, Salmonella typhimurium, Salmonella enteritidis, Louping ill Virus, St. Louis Encephalitis, Pseudomonas, Gelbfieber, Friends Leukämie, Pocken, Hepatitis, Influenza, MKS (Hetzler, 1927; Webster, 1937; Schütze u. Mitarbeiter, 1936; Franker u. Quilligan, 1966; Pritchett, 1925; Gowen u. Schott, 1933; Gowen, 1961; Bang und Warwick, 1960; Lübke, 1959); die dafür verantwortlichen Mechanismen blieben aber unbekannt. Biozzi und Mitarbeiter (1979) beschritten mit ihren Selektionsversuchen mit Mäusen einen neuen Weg, die genetischen Regulationsmechanismen der an einer Immunantwort beteiligten Zellsysteme zu analysieren.

In fünf verschiedenen Selektionsexperimenten versuchten sie, jeweils eine "high-" (H) und eine "low"- (L) responder Linie von Mäusen zu züchten, wobei sie davon ausgingen, daß diese nach Erreichung eines Selektionsplateaus (nach 7-16 Generationen) homozygot an den regulierenden Genloci waren. Als Immungene benutzten sie Schaf- und Taubenerythrozyten, Salmonellenantigene und Rinderserumalbumin, abwechselnd mit Kaninchengammaglobulin.

Die Versuche ergaben, daß trotz der engen Wechselwirkungen zwischen T-Lymphozyten, B-Zellen und Makrophagen die Regulation der immunologischen Aktivitäten dieser drei Zelltypen einer selbständigen, polygenen Kontrolle unterliegt, im Gegensatz zur monogenen Kontrolle einer Immunantwort auf eine oder nur wenige Determinanten eines "einfachen" synthetischen Antigens oder eines komplexen Antigens in minimaler Dosierung durch spezifische Immun-Response (IR) Gene (McDevitt und Benacerraf, 1969; Mozes und Shearer, 1972). Die Ergebnisse dieser Selektionsexperimente lassen sich wie folgt zusammenfassen (Biozzi et al., 1979):

1. Die humorale und zellvermittelte Immunität unterliegen einer voneinander unabhängigen genetischen Kontrolle.
2. Die genetische Regulation der Antikörperantwort und die der Makrophagenaktivität erfolgt entgegengesetzt.
3. Die Antikörperantwort auf Schaf- bzw. Taubenerythrozyten wird von einer Gruppe von zehn Genloci kontrolliert, von denen einer mit dem H-2-Komplex (Liacopoulos-Briot et al., 1972) und ein anderer mit dem Immunglobulinallotyp-Locus (Biozzi et al., 1970; Liebermann et al., 1972) gekoppelt ist. Es sind also nur zwei Genloci von den zehn gefundenen den bisher bekannten Immun-Response Genen (IR) zuzuordnen (Stiffel et al 1974).

Das vielleicht wichtigste Ergebnis des Selektionsversuches von Biozzi besteht darin, daß sich die H- und L-Linie, die sich im Hinblick auf die Antikörperreaktion so stark unterscheiden, in

Bezug auf die T-Zellvermittelte Immunität gleichen: Die Abstoßungsreaktion von Hauttransplantaten ist ein T-zellvermitteltes Phänomen; H- und L-Linie reagierten bei Transplantatabstoßung sehr ähnlich (Liacopoulos-Briot, 1972). Andere T-zellvermittelte Reaktionen wie die "Graft-Versus-Host-Reaktion (Byfield und Howard, 1972), Hypersensitivität vom Spättyp (Mouton et al., 1974) und die Lymphozytenstimulation in vitro mittels Phytohämagglutinin (Liacopoulos-Briot et al., 1974) hatten sowohl in der H- als auch in der L-Linie gleiche Intensität. Weiter wichtige immunbiologische Charakteristika der H- und L-Linie waren folgende:

Der Unterschied der Serumantikorperspiegel zwischen der H- und L-Linie ist von der genetischen Steuerung der Antikörpersynthese abhängig während der Abbau der Antikörpermoleküle in beiden Linien ähnlich ist (Oriol et al., 1972). Die Gruppe von Genen, die in beiden Linien durch Selektion angereichert wurde, reguliert die Synthese aller Immunglobulinklassen: IgM, IgG, IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub> (Biozzi et al., 1970; Liebermann et al., 1972), Reagine (Prouvost-Danon et al., 1971, 1977) und IgA (Andre' et al., 1977). Die Gesamtserumkonzentration der Immunglobuline ist in der L-Linie niedriger als in der H-Linie. Dieser Unterschied verstärkt sich noch durch eine Immunisierung und erstreckt sich über alle Immunglobulinklassen.

Insgesamt gesehen sind L-Mäuse genetisch hypoglobulinämisch und das erklärt auch ihre generell schlechte Antikörperreaktion gegenüber allen Antigenen (Biozzi et al., 1970). Unterschiede zwischen

der H- und L-Linie gelten auch bezüglich des Gewichtes der Milz, die hauptsächlich verantwortlich für die Antikörperbildung nach einer intravenösen Immunisierung ist. Die stärkere Antikörperantwort der H-Mäuse im Vergleich zu den L-Mäusen konnte auch mit anderen, vom Selektionsantigen verschiedenen Antigenen gezeigt werden. So reagierten die Probanden der H-Linie stärker auf Immunisierung mit heterologen Erythrozyten, Proteinen wie Hämocyanin (Unanue et al., 1974), Hühnereialbumin (Prouvost-Danon, 1971) und Rinderserumalbumin (Heumann und Stiffel, 1978), mit Haptenen wie DNP (Del Guericio und Zola, 1972) und TNP (Doria et al., 1978), desgleichen mit bakteriellen Polysacchariden (Howard et al., 1974) und Influenzavirus (Floc'h und Werner, 1978), mit bakteriellen Antigenen wie Salmonellen (Sant'Anna et al., 1979) und Streptokokken (Biozzi et al., 1979). Auch mit Parasiten wie Plasmodium berghei (Biozzi et al., 1978), Trypanosoma cruzi (Kierszenbaum u. Howard, 1976), Leishmania tropica (Biozzi et al., 1979), Schistosoma donovani (Blum u. Cioli, 1978) und Trichinella spiralis (Perrudet-Badoux et al., 1975, 1978) konnten gleiche Ergebnisse erzielt werden. Die Makrophagen der L-Mäuse konnten Antigene sehr viel schneller abbauen als die Makrophagen der H-Linie (Wiener et al., 1974; Biozzi et al., 1975). Dadurch war auch das Angebot des Antigens für T- und B-Zellen und infolgedessen auch die Antikörperproduktion in der L-Linie eingeschränkt. Stellten lebende Bakterien das durch Makrophagen aufgenommene Antigen dar, so zeigte sich, daß die Zahl der lebensfähigen Mikroorganismen bei H-Mäusen um

ein Vielfaches höher war als in L-Mäusen (Plant und Glynn, 1980; Lagrange et al., 1979; Cannat et al., 1978; Fuensalida-Draper, 1980). Dies ist am Beginn einer Infektion zu beobachten, später verringert sich der Unterschied zwischen den beiden Mäuselinien aufgrund der stärkeren Antikörperproduktion bei H-Mäusen. Eine unterschiedlich starke natürliche und erworbene Infektionsresistenz besteht ebenfalls bei H- und L-Mäusen. Durch wiederholte Immunisierung von Mäusen der H-Linie mit bestrahlten Parasiten verringerte sich die hohe Mortalitätsrate nach Infektion mit *Plasmodium berghei* deutlich (Heumann et al., 1979). Bei Infektionsversuchen mit *Trypanosoma cruci*, Versuchen mit Tollwutvirus (Nilsson et al., 1979) und mit *Nematosporoides dubius* (Jenkins et al., 1981) waren Mäuse der H-Linie gegenüber diesen Erregern den L-Mäusen deutlich überlegen. Bei einer Infektion mit Parasiten, die fähig waren in Makrophagen zu überleben, zeigte sich das Gegenteil. Mäuse der L-Linie waren gegenüber diesen sehr viel resistenter. Dies wurde mit *Salmonella typhimurium* (Plant und Glynn, 1980; O'Brien et al., 1980), *Leishmania tropica* (Hale und Howard, 1981) sowie mit *Brucella abortus suis* (Cannat et al., 1978) gezeigt.

In einem weiteren Selektionsversuch mit Mäusen auf hohes und niedriges Phagozytosevermögen von kolloidaler Tusche zeigten Buschmann und Meyer (1981), daß das untersuchte Merkmal genetisch determiniert ist und einer polygenen Steuerung unterliegt. Die Hohe und Niedrige Linie divergierten bei der

Selektion immer mehr. Es zeigte sich auch, daß sich die beiden Linien in Bezug auf andere Merkmale auch noch unterschieden: z.B. Leber- und Milzgewicht, Antikörperbildungsvermögen, Resistenz gegenüber Infektionen, Vorkommen von spontanen und künstlich induzierten Tumoren, sowie in der Vitalität. "Diese Resultate sprechen dafür, daß die polygene Regulation der Immunantwort der beste Garant dafür ist, daß eine genetisch heterogene Population gegen eine Vielfalt von Infektionserregern geschützt ist" (Buschmann und Meyer, 1981).

Kleinschmidt (1983) berichtet über Erfolge bei der Selektion von Schweinen auf Antikörperbildungsvermögen gegenüber Dinitrophenyl-Hapten. Weiterhin war auch das Antikörperbildungsvermögen gegenüber anderen nicht verwandten Antigenen wie T4-Bakteriophagen, Tetanustoxoid und Hühnereialbumin durch die Selektion verschoben. In vitro meßbare Parameter der zellulären Immunität blieben jedoch durch die Selektion unberührt.

### 3. Material und Methodik

#### 3.1. Versuchsaufbau

##### 3.1.1. Versuchstiere

Bei den Versuchstieren handelt es sich um Mäuse aus dem Versuchstierlabor am Lehr- und Versuchsgut der Tierärztlichen Fakultät der Universität München in Oberschleißheim. Der Selektionsversuch wird mit Albinomäusen der laboreigenen Auszuchtpopulation POP durchgeführt. Diese Zucht wurde 1958 mit Mäusen der Randomzuchtstämme II (später NMRI) und III der Bundesforschungsanstalt für Viruskrankheiten der Tiere in Tübingen begründet. Außerdem werden in Vorversuchen zum eigentlichen Selektionsversuch Inzuchtmäuse (CBA/J F>150+48 und laboreigener Z/a-Stamm, F93) verwendet.

##### 3.1.2. Umwelt

Die Tiere werden unter definierten Umweltbedingungen im SPF-Status gehalten. Im Versuchszeitraum sind sie frei von Ektoparasiten sowie von folgenden für SPF-Versuchstiere zur Kontrolle empfohlenen Bakterien: Salmonellen, Pasteurellen, Listerien, *Erysipelothrix rhusiopathiae* und *Bordetella (Haemophilus) bronchiseptica*. Bezüglich Endoparasiten wurde während des Versuchs im Labor ein geringgradiger Befall mit *Aspicularis tetraptera* diagnostiziert. Klinisch kranke Tiere wurden nicht beobachtet.

Das Versuchstierlabor verfügt über zwei Räume, das Zuchtlabor und das Arbeitslabor. Versuche, die den häufigen Zutritt zu den

Tieren erfordern, werden im Arbeitslabor durchgeführt. Dadurch werden Störungen des Tagesablaufes und eventuelle Beeinträchtigungen des Umweltstandards bei den Zuchttieren vermieden. Der Umweltstandard der Zuchtanlage wurde u.a. von Bakels (1961) und Meyer et al., (1970) ausführlich dargestellt. Es handelt sich um eine kleine Zuchtanlage im halboffenen System (Zuchtlabor: 35m<sup>2</sup>, Kapazität: 576 Käfige; Arbeitslabor: 16m<sup>2</sup>, Kapazität: 180 Käfige). Es wird ein detailliertes Hygieneprogramm durchgeführt.

Laborklima: Klimaanlage mit 8-12 maliger Lüftererneuerung/Std.  
(Temp.  $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , 50-55% r.F.)

Beleuchtung: Nach außen abgedunkelter Raum, Lichtprogramm im 12:12 Stundenintervall mit Hellphase von 7-19 Uhr, 4 Leuchtstoffröhren mit je 40 Watt.

Haltung der Tiere: Im Zuchtlabor in Holzkäfigen, Hannover'sches Modell. Innenmaße: 235x380x108 mm; im Arbeitslabor in Makrolonkäfigen Typ III.

Einstreu: Staubarme, sterilisierte Weichholzspäne vermengt mit Holzgranulat; Wechsel zweimal bzw. im Arbeitslabor einmal wöchentlich.

Futter: Sterilisiertes Pelletfutter ad libitum (Altromin 1314 Ratte/Maus Zucht, Standarddiät "fortiefied").

Tränkwasser: Abgekochtes Leitungswasser in Tränkflaschen Wechsel zweimal bzw. im Arbeitslabor einmal wöchentlich.

Kontrolle der Tiere: Täglich mindestens einmal , an Operations-  
tagen mehrfach; Datenerhebung / Wiegungen morgens  
zwischen 7.30 und 10.00 Uhr

### 3.1.3. Versuchsdurchführung

Dem Zwei-Linien-Selektionsversuch geht eine Vorversuchsphase voraus. In dieser werden verschiedene Tierkontingente (Abstammung, Alter, Geschlecht ) im Rahmen der Einarbeitung in die Technik der in vivo- und in vitro-Testverfahren eingesetzt. Die Mäuse werden dazu aus dem Zuchtlabor in das konventionelle Tierlabor des Instituts für medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin gebracht. Der Hauptversuch wird bzgl. des tierexperimentellen Teils im Arbeitslabor des Lehr- und Versuchsgutes, bzgl. der in vitro-Teste im Immunlabor des Instituts für med. Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre durchgeführt. Die Tierhaltung und Zucht erfolgt dabei in der Regel nach folgendem Schema:

- a. Absetzen der Jungtiere aus permanenter Monogamzucht im Alter von 21 Tagen.
- b. Sortieren der Versuchstierkontingente nach Abstammung und Geschlecht im Alter von 25-30 Tagen. Pro Makrolonkäfig Typ III werden 8-10 individuell mit Pikrinsäure markierte Tiere gehalten. Dieses Tierkontingent läuft dann durch einheitliche Immunisierungs- und Operationstermine einschließlich postoperativer Tierhaltung.
- c. Pro Generation erfolgt eine Wiederholung mit möglichst übereinstimmender Nachkommensortierung. Zwangsläufig sind die

Tiere der Wiederholung älter als die Vollgeschwister des ersten Durchgangs.

- d. Nachdem die *in vitro*-Testergebnisse vorliegen, wird der Zuchtplan für die nächste Generation erstellt. Ausschlaggebend für die Selektion ist der CTL-Index. Aus Gründen der Inzuchtvermeidung kann dabei die Bevorzugung eines in der Rangfolge niedrigeren Probanden aus einer nicht verwandten Familie gegenüber der Selektion von Nachkommen aus der gleichen Familie notwendig sein. Normalerweise werden das jeweils höchst reagierende ♀ und ♂ pro Familie zur Weiterzucht in der hohen Linie bzw. die niedrigst reagierenden in der Abwärtsselektion verwendet. Die selektierten Tiere werden in monogamer Zucht weitergeführt (ein Zuchtpaar pro Makrolonkäfig III).
- e. Wegen der begrenzten Kapazität im *in vitro*-Testverfahren beginnt die Basiszucht mit nur 10 Familien. Im Fortgang des Versuchs sind eine weitere Einengung der Zuchtpopulation innerhalb Linie und gezielte Inzuchtschritte unumgänglich.

#### 3.1.3.1. Zeitplan:

Durch den 10-tägigen Abstand zwischen Immunisierung der Mäuse und der Milzextirpation, sowie den aufwendigen Laboranteil mit einem Durchsatz von max. 8 Tieren pro Termin, bei max. 2 Terminen pro Woche ergab sich folgender Zeitplan:

Immunisierung: Montag u. Freitag jeweils 10.00 Uhr - 11.00 Uhr

Milzextirpation und Test (x+10d): Donnerstag u. Montag jeweils  
7.30 Uhr - 9.00 Uhr

Nach diversen Voruntersuchungen im Frühjahr 1984 entwickelte  
sich folgender Plan:

06.06.84 - 17.09.84 Vorversuche

05.08.84 - 21.08.84 F0 geboren aus einem Ansatz von 12 Familien

05.10.84 - 25.10.84 Immunisierungs/Op-Termine; (je 4)

26.10.84 - 15.11.84 zusätzlich 2. Durchgang mit Vollgeschwistern  
(2. Altersstufe)

07.11.84 Paarung (assortativ) von 32 Tieren, je  
8 ♂♂/♀♀ für hohe und tiefe Linie

ab 28.11.84 F1 geboren

ab 19.12.84 Absetzen der Jungen, Aufzucht u. Sortierung

18.01.85 - 31.01.85 Test von Alttieren

25.01.85 - 14.02.85 Immunisierungs/Op-Termine F1

Anfang März 85: Paarung der F1 (hohe und tiefe Linie)

11.03.85 - 04.04.85 F1 2. Durchgang mit Vollgeschwistern  
(2. Altersstufe)

ab 25.03.85 F2 geboren

ab 15.04.85 Absetzen der Jungen Aufzucht u. Sortierung

20.05.85 - 01.07.85 F2 Immunisierungs/Op-Termine

24.06.85 - 18.07.85 F2 2. Durchgang mit Vollgeschwistern  
(2. Altersstufe)

Mitte Juli Paarung F2

#### 3.1.3.2. Methodik

- a. Immunisierung der nach Abstammung, Alter und Geschlecht sortierten Tiere mit  $2 \times 10^7$  P 815 Mastocytomzellen i.p. im Arbeitslabor des Lehr- u. Versuchsgutes in Oberschleißheim.
- b. 10 Tage nach der Immunisierung Op-Termin mit Milzextirpation.
- c. Transport der extirpierten Milzen in phys. NaCl zum Institut für medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.
- d. Herstellung einer Milzzellsuspension und Bestimmung des CTL-Indexes anhand des Cr51-Freisetzungstestes.

#### 3.1.3.3. Tumormaterial

Zur Immunisierung der Mäuse wurden P 815 Mastocytomzellen, DBA/2 mit der Nummer TIB-64 der American Type Culture Collection verwendet.

Die Zellen wurden am Institut für medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München durch Erneuerung des Mediums (MEM 10% foetales Kälberserum) kultiviert. Nach Beendigung einer Testgeneration wurden die P 815 Zellen eingefroren und in flüssigem  $N_2$  aufbewahrt.

#### 3.1.3.4. Immunisierung der Mäuse

Die Mäuse wurden mit  $2 \times 10^7$  P 815 Mastocytomzellen i.p. immunisiert.

#### Herstellen der Zellsuspension:

- a. P 815-Zellen wurden mit Medium (MEM) + 10% foetalem Kalberserum (FKS) im Brutschrank in Zellkulturflaschen vermehrt.
- b. Zur Herstellung der zur Immunisierung benötigten Zellsuspension wurde der Inhalt der Flaschen im Plastikzentrifugenröhrchen eingefüllt und anschließend 5 min. bei 1500 Umdrehungen/min. zentrifugiert.
- c. Anschließend wurde der Überstand abgegossen und das sich am Boden gebildete Zellsediment aller Röhrchen in phys. NaCl aufgenommen. Diese Suspension wurde erneut 5 min. bei 1500 Umdrehungen/min. zentrifugiert.
- d. Jetzt wurde der Überstand abgenommen und das Zellsediment erneut in 5 ml phys. NaCl suspendiert.
- e. Um die Zelldichte festzustellen, wurde eine Lebend-Tot-Färbung mit Trypanblau angefertigt und in der Zählkammer ausgezählt.
- f. Je nach Zelldichte wurde die vorhandene Zellsuspension mit phys. NaCl zusätzlich verdünnt, um die gewünschte Zellkonzentration von  $2 \times 10^7$  P 815-Zellen in 0,5 ml Injektionssuspension zu erhalten.

#### 3.1.3.5. Milzextirpation

Zur Milzextirpation wurden jeweils 3 Mäuse gleichzeitig in Narkose gelegt. Die Narkose erfolgte mit 0,07 - 0,08 ml 50 : 50 mit phys. NaCl verdünntem handelsüblichem Hypnodil  $\approx 1,75$  - 2,0 mg Metomidat-HCL (R73/5)/Maus. Nach i.p. Injektion

des Narkotikums verfielen die Mäuse nach kurzem Exzitationsstadium in eine ca. 1,5 Std. anhaltende Narkose. Nachdem die Mäuse in der linken Flanke gut rasiert wurden, wurde mit Alkohol desinfiziert und mit einem Scherenschlag die äußere Haut kurz hinter dem Rippenbogen parallel zum Rippenbogen eröffnet. Nach Eröffnung der Bauchhöhle (erneuter Scherenschlag) war meist die Milz schon zu sehen. Schwierigkeiten bereitete ab und zu eine relativ große Ascitesmenge, die die Sicht in die Bauchhöhle verdeckte. Anschließend wurde die Milz mit einer Pinzette aus der Bauchhöhle vorgelagert. Mit einer Arterienklemme wurde der gesamte Gefäß- und Bandapparat abgeklemmt und unterhalb der Klemme mit Catgut (Catgut Plain 2 metric 4-0) ligiert. Nachdem die Milz vom Bandapparat gelöst (Scherenschlag) war, wurde sie in einem Plastikfläschchen mit phys. NaCl aufbewahrt. Der Verschluß der Bauchhöhle erfolgte nach antibiotischer Versorgung durch ein einfaches U-Heft mit oben genanntem Catgut. Die äußere Haut wurde danach ebenfalls durch ein einfaches U-Heft mit synthetischem Nahtmaterial (Etibond 2 metric 3-0) verschlossen.

#### 3.1.3.6. Der CTL-Test

Die Aktivität der Cytotoxischen T-Lymphozyten läßt sich mit dem Chrom-51-Freisetzungstest (Brunner et al., 1968, Thorn und Mitarbeiter, 1974) nachweisen. Dieser Test arbeitet nach dem Prinzip, daß die Membran der Zielzellen mit dem radioaktiven Element Chrom-51 markiert und jene anschließend einer Effektorzell-

population ausgesetzt werden. Das durch die Effektorzellaktivität aus lysierten Zielzellen freigesetzte Cr51 kann aufgrund seiner Strahlung mit einem Gamma-Counter nachgewiesen werden. Unter Berücksichtigung der Markierung der Zielzellen (cpm), des spontan von den Zielzellen und des maximal durch Totallysis freigesetzten Cr51 wird die spezifische Lysis in % errechnet.

Zur Auswertung werden die Milzen auf einem Metallgitter mechanisch zerrieben und in Medium suspendiert, anschließend durch doppelte Gaze filtriert und das Filtrat bei 1500 Upm 5 min. lang zentrifugiert. Der Überstand wird abgekippt und wiederum mit Medium aufgegossen. Läßt man die Suspension stehen, sinken Detritus und größere Gewebstrümmer ab, die leichteren Lymphozyten schwimmen oben. Dieser Überstand wird abgenommen und erneut zentrifugiert. Das Zellsediment wird daraufhin in Medium aufgenommen, 40  $\mu$ l der Suspension werden entnommen und die Zellzahl in einem Zählgerät (Blood Cell Counter HC 222, Fa. Clinicon, Mannheim) bestimmt.

Anschließend werden von den gewonnen Milzzellen und den Cr51 markierten P 815 Zielzellen drei Mischungsverhältnisse hergestellt: 200:1, 150:1 und 100:1. Diese drei Mischungsverhältnisse werden auf eine Mikroplatte pipettiert. Die Kontrollen enthalten nur Medium und Zielzellen (für Spontan Release), sowie Zielzellen für die Bestimmung des Maximal Release (alle Zielzellen werden mit Hematology Lysing Hemoglobin, Fa.Clinicon, Mannheim, zerstört). Nach 4 Stunden Inkubation und nach

erneuter Zentrifugation wird die Cr51-Freisetzung im Überstand in einem Gamma-Counter bestimmt.

Die Berechnung des Spec. Release erfolgt für jede Probe nach folgender Formel:

$$\text{Spec. Release \%} = \frac{\text{cpm (Test)} - \text{Spontan Release}}{\text{Maximal Release} - \text{Spontan Release}} \times 100$$

Der Specific Release wird für alle drei Mischungsverhältnisse (200:1, 150:1, 100:1) berechnet. Der Durchschnitt aus diesen drei Werten ergibt den CTL-Index, der als Kriterium für die Selektion der Mäuse diene.

#### 4. Ergebnisse

##### 4.1. Ergebnisse der Vorversuche

In Vorversuchen wurden insgesamt 91 Mäuse auf ihre CTL-Aktivität untersucht. Davon entstammten 82 (58 ♀♀ und 24 ♂♂) der laboreigenen Auszuchtpopulation Pop. Ferner wurden 2 ♂♂ des CBA/J Inzuchtstammes und 7 (4 ♀♀ + 3 ♂♂) Inzuchtmäuse Z/a getestet. Die Auszuchtmäuse hatten einen Gesamtmittelwert von 18,12 mit einer Standardabweichung von 11,29. Dabei lagen die ♀♀ mit einem Mittelwert von  $18,43 \pm 11,95$  geringgradig über den ♂♂ mit  $17,39 \pm 9,69$ . Bei den Inzuchtmäusen ergab sich für den Stamm Z/a ein Mittelwert von  $14,3 \pm 3,89$ , die ♀♀ lagen hier mit einem CTL-Index von  $11,32 \pm 2,49$  ( $n=4$ ) unter den ♂♂ mit  $16,58 \pm 4,01$  ( $n=3$ ). Für die Tiere des Inzuchtstammes CBA/J (♂♂) ( $n=2$ ) ergab sich ein CTL-Mittelwert von  $5,27 \pm 0,26$ .

Wir fanden, daß die Inzuchtmäuse deutlich kleinere Standardabweichungen ( $0,26 < sd < 4,01$ ) zeigten als die Auszuchtmäuse mit Standardabweichungen von  $9,69 < sd < 11,95$ . Einen Überblick über Rasse, Anzahl, Geschlecht und CTL-Index der Mäuse im Vorversuch liefert Tabelle 2. Bei 17 Testtagen der Vorversuchsphase wurde folgende Häufigkeitsverteilung der CTL-Aktivität festgestellt (Tabelle 3).

Tabelle 2: Überblick über Rasse, Anzahl, Geschlecht und CTL-Index der Mäuse im Vorversuch

| Rasse       | ♀♀ + ♂♂ |                  | ♀♀ |                  | ♂♂ |                 |
|-------------|---------|------------------|----|------------------|----|-----------------|
|             | n       | CTL              | n  | CTL              | n  | CTL             |
| Pop-Ausz.   | 82      | 18,12<br>± 11,29 | 58 | 18,43<br>± 11,95 | 24 | 17,38<br>± 9,69 |
| Inzucht Z/a | 7       | 14,30<br>± 3,89  | 4  | 11,32<br>± 2,49  | 3  | 16,58<br>± 4,01 |
| CBA/J       |         |                  |    |                  | 2  | 5,27<br>± 0,26  |

Tabelle 3: Häufigkeitsverteilung der CTL-Aktivität in der Vorversuchsphase

| CTL-Aktivität | Pop-Auszucht | Inzucht Z/a | CBA/J |
|---------------|--------------|-------------|-------|
| 0 - 10        | n = 22       | n = 1       | n = 2 |
| 10 - 20       | n = 29       | n = 5       |       |
| 20 - 30       | n = 16       | n = 1       |       |
| 30 - 40       | n = 12       |             |       |
| > 40          | n = 3        |             |       |

#### 4.2. Ergebnisse der Hauptversuche

Der Hauptversuch lief über 3 Generationen (F<sub>0</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>) und es wurden insgesamt 221 (125 ♀♀ und 96 ♂♂) Mäuse auf ihre CTL-Aktivität getestet. Die durch den Test und andere Gründe verursachte Ausfallquote betrug 16,9%. Einen Überblick über die Anzahl Testtiere und den CTL-Index des Hauptversuchs liefert Tabelle 4.

Tabelle 4: Überblick über die Anzahl Testtiere und CTL-Index im Hauptversuch

| Generation | Linie  | ♀♀  |                 | ♂♂ |                 | ♀♀ + ♂♂ |                 |
|------------|--------|-----|-----------------|----|-----------------|---------|-----------------|
|            |        | n   | CTL             | n  | CTL             | n       | CTL             |
| F 0        |        | 44  | 18,20<br>±12,01 | 24 | 24,93<br>±13,61 | 68      | 20,57<br>±12,91 |
| F 1        | nieder | 16  | 13,72<br>± 8,95 | 16 | 19,96<br>±12,94 | 32      | 16,84<br>±11,39 |
|            | hoch   | 26  | 19,38<br>±15,96 | 18 | 34,34<br>±12,73 | 44      | 25,50<br>±16,35 |
| F 2        | nieder | 20  | 4,70<br>± 3,85  | 19 | 14,66<br>±11,50 | 39      | 9,55<br>± 9,77  |
|            | hoch   | 19  | 9,56<br>± 9,17  | 19 | 22,74<br>±14,91 | 38      | 16,15<br>±13,92 |
|            |        | 125 |                 | 96 |                 | 221     |                 |

#### 4.2.1. Abhängigkeit der CTL-Reaktion von der Stärke der Markierung der Zielzellen (cpm)

Die unterschiedliche Markierung der Zielzellen (cpm) mit Cr51 variierte während des Testes. Wir untersuchten deshalb, ob eine Abhängigkeit zwischen der CTL-Reaktion und der Markierung der Zielzellen besteht. Die Korrelation betrug  $r=0,0565$ , 229 FG,  $P > 5\%$  d.h. es bestand keine pos. Korrelation zwischen den Parametern.

#### 4.2.2. Abhängigkeit der CTL-Reaktion vom Alter der Tiere

Die Mäuse wurden in verschiedenen Altersstufen getestet. Dies war zum einen wegen der fehlenden Laborkapazität (nur 8 Tiere pro Testtag) unumgänglich und zum anderen durch die Wiederholung des Testes mit möglichst übereinstimmender Nachkommensortierung pro Generation bedingt. Eine Korrelation zwischen CTL-Reaktion und Alter der Mäuse konnte im untersuchten Altersbereich nicht festgestellt werden ( $r = -0,0402$ , 229 FG und  $P > 5\%$ ). Einen Überblick über Alter, Anzahl und CTL-Index der Gesamtpopulation liefert Tabelle 5.

Aus Tabelle 5 ist zu ersehen, daß das Alter der Mäuse auf den CTL-Index keinen Einfluß nimmt.

Einen Überblick über Altersverteilung und CTL-Wert in den Generationen liefert Tabelle 6. Daraus ist ebenfalls ersichtlich, daß die CTL-Reaktion altersunabhängig ist.

Tabelle 5:

Überblick über Alter, Anzahl und CTL-Index der Gesamtpopulation

| Alter in Tagen | Anzahl | CTL $\pm$ sd      | CTL   | CTL   |
|----------------|--------|-------------------|-------|-------|
|                |        | ♀♀ + ♂♂           | ♀♀    | ♂♂    |
| 60 - 70        | 43     | 18,67 $\pm$ 13,91 | 7,68  | 23,16 |
| 71 - 80        | 48     | 20,97 $\pm$ 12,47 | 19,78 | 25,61 |
| 81 - 90        | 22     | 15,89 $\pm$ 13,63 | 11,52 | 18,91 |
| 91 - 100       | 37     | 20,03 $\pm$ 14,04 | 11,76 | 30,91 |
| 101 - 110      | 18     | 9,71 $\pm$ 9,85   | 8,86  | 10,15 |
| 111 - 120      | 16     | 24,32 $\pm$ 18,26 |       | 24,32 |
| 121 - 130      | 16     | 9,55 $\pm$ 6,62   | 9,55  |       |
| 167 - 176      | 8      | 30,46 $\pm$ 8,87  | 30,46 |       |
| > 200          | 18     | 16,42 $\pm$ 14,45 | 16,42 |       |

Tabelle 6: Altersverteilung und CTL-Wert in den Generationen

| Generation        | Alter der Mäuse in Tagen |               |               |               |
|-------------------|--------------------------|---------------|---------------|---------------|
|                   | 62 - 76                  | 78 - 109      | 112 - 176     | 231 - 258     |
| F 0 ♀♀<br>♂♂      | 16,78 ± 12,15            | 16,03 ± 9,24  | 30,46 ± 8,87  | 13,88 ± 6,76  |
|                   | 22,90 ± 13,67            | 28,98 ± 13,42 |               |               |
| F 1 ♀♀<br>Hoch ♂♂ | 30,80 ± 12,65            |               | 9,11 ± 5,61   | 18,45 ± 18,67 |
|                   | 31,62 ± 11,54            |               | 37,73 ± 14,10 |               |
| Nieder ♀♀<br>♂♂   |                          | 17,45 ± 8,78  | 9,99 ± 7,91   |               |
|                   | 29,00 ± 8,16             |               | 10,92 ± 10,28 |               |
| F 2 ♀♀<br>Hoch ♂♂ | 7,47 ± 4,24              | 18,42 ± 13,13 |               |               |
|                   | 13,76 ± 7,90             | 35,09 ± 13,48 |               |               |
| Nieder ♀♀<br>♂♂   |                          | 4,70 ± 3,85   |               |               |
|                   |                          | 14,66 ± 11,50 |               |               |

#### 4.2.3. Abhängigkeit der CTL-Reaktion vom Geschlecht der Tiere

Ein Geschlechtsunterschied konnte in allen geprüften Generationen festgestellt werden. Die ♀♀ lagen dabei sowohl in der Niederen Linie als auch in der Hohen Linie in ihrem CTL-Index niedriger als die ♂♂. Die Unterschiede in beiden Geschlechtern waren signifikant ( $t = 5,13, 227 \text{ FG}, P < 5\%$ ).

In der Gesamtpopulation hatten 133 ♀♀ einen Mittelwert von  $14,3717 \pm 12,157$ , 96 ♂♂ einen Mittelwert von  $23,4032 \pm 14,429$ .

Abb. 3, Abb. 4 und Abb. 5 vermitteln einen Überblick des CTL-Mittelwertes getrennt nach Geschlechtern in der Gesamtpopulation, F0, F1 (Hohe u. Niedere Linie), F2 (Hohe u. Niedere Linie). Bezüglich der erreichten CTL-Werte der beiden Geschlechter siehe Tabelle 4.

Abb. 3: Geschlechtsunterschied in der CTL-Aktivität der Gesamtpopulation

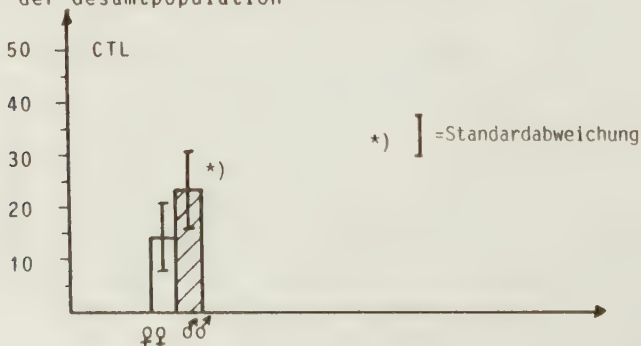


Abb. 4: Geschlechtsunterschied in der CTL-Aktivität  
in der Niederen Linie

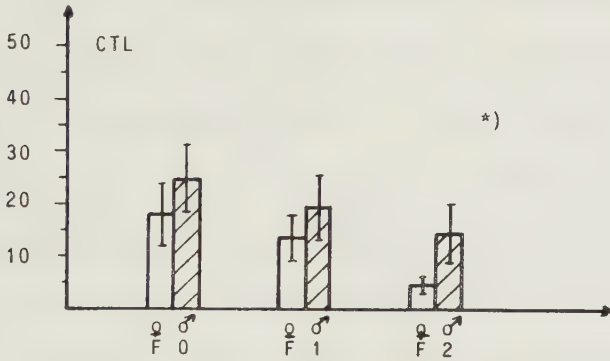
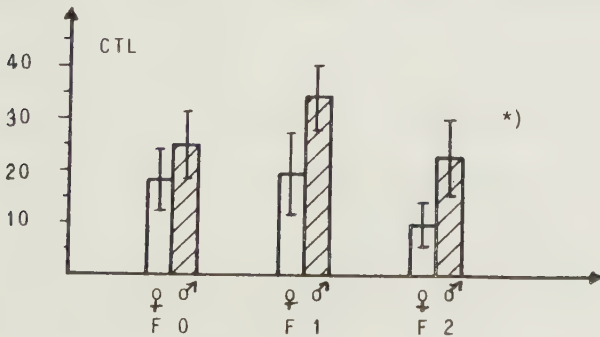


Abb. 5: Geschlechtsunterschied in der CTL-Aktivität  
in der Hohen Linie



\*)  $\bar{\phantom{x}}$  = Standardabweichung

#### 4.2.4. Abhängigkeit der CTL-Reaktion von der Ascitesbildung

Die Mäuse zeigten nach der Immunisierung durchwegs eine mehr oder weniger starke Ascitesbildung, die am OP-Tag teilweise noch vorhanden war. Insgesamt wurden 195 Tiere durch Asciteskontrolle am OP-Tag erfaßt. Es wurden 7 Ascitesstärken unterschieden (von negativ, +, 1+, 2+, 3+, 4+, 5+).

Tabelle 7 zeigt, daß 190 Tiere im Bereich von negativ bis 3+ durchschnittlich gleiche CTL-Werte besaßen. Lediglich 5 Tiere fielen dadurch auf, daß sie mit niederen CTL-Werten von 5,06 (n= 4) und 2,64 (n = 1) einen hohen Ascitesgrad (4+ bzw. 5+) hatten.

#### 4.2.5. Entwicklung des Körpergewichtes

Durch die Immunisierung und die daraus resultierende Ascitesbildung verzeichneten die Mäuse eine erhebliche Gewichtssteigerung (bis zu ca. 25% des Körpergewichts). Der Gewichtsverlauf der Tiere wurde durch tägliches Wiegen, vom Tag der Immunisierung (1. Tag) bis zum OP-Tag (11. Tag) überwacht. Aus Tabelle 8 geht hervor, daß das Körpergewicht allgemein am 8. Tag den Höhepunkt erreichte. Danach kam es innerhalb der folgenden drei Tage zu einer erheblichen Gewichtsreduktion, sodaß die Mäuse am OP-Tag nur noch geringfügig (1-2 Gramm) über dem Ausgangsgewicht am Tag der Immunisierung lagen. Je nach Ascitesgrad, der bei der Operation festgestellt wurde, lag auch das Körpergewicht der Mäuse noch höher als am Tag der Immunisierung. Zwischen den Geschlechtern gab es im Gewichtsverlauf keine Unter-

schiede, wohl aber stellten wir Differenzen zwischen der Hohen und Niederen Linie und Unterschiede in Abhängigkeit vom CTL-Wert fest. Aus Tabelle 9 und 10 ist der Gewichtsverlauf der ♂♂ bzw. ♀♀ in Abhängigkeit vom CTL-Wert ersichtlich. Abbildung 6 und 7 zeigen den Gewichtsverlauf der ♂♂ bzw. ♀♀ in Abhängigkeit vom CTL-Wert.

In der Hohen Linie war die Gewichtszunahme geringer als in der Niederen Linie und in der F0. Die Tiere der Hohen Linie konnten das Gewicht vom 8. Tag bis zum OP-Tag schneller reduzieren als die Tiere der Niederen Linie und die der F0. Abbildung 8 und 9 zeigen den Gewichtsverlauf der ♂♂ bzw. ♀♀ in der F0-Generation und F1, F2 (gepoolt) der Hohen und Niederen Linie.

Abbildung 6: Gewichtsverlauf der ♂♂ in Abhängigkeit vom CTL-Wert

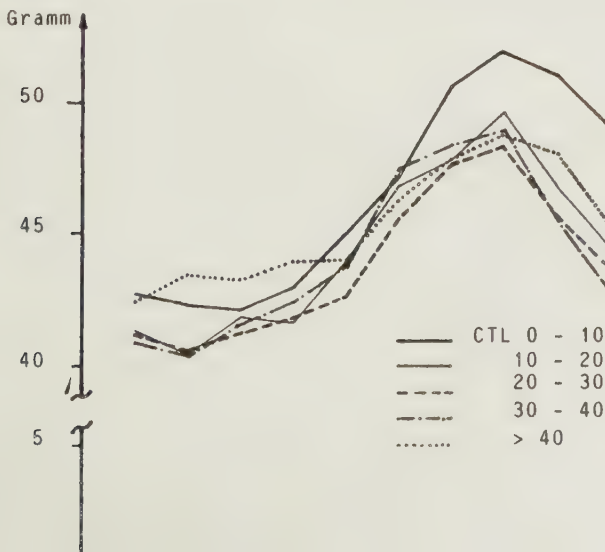


Abbildung 7: Gewichtsverlauf der ♀♀ in Abhängigkeit vom CTL-Wert

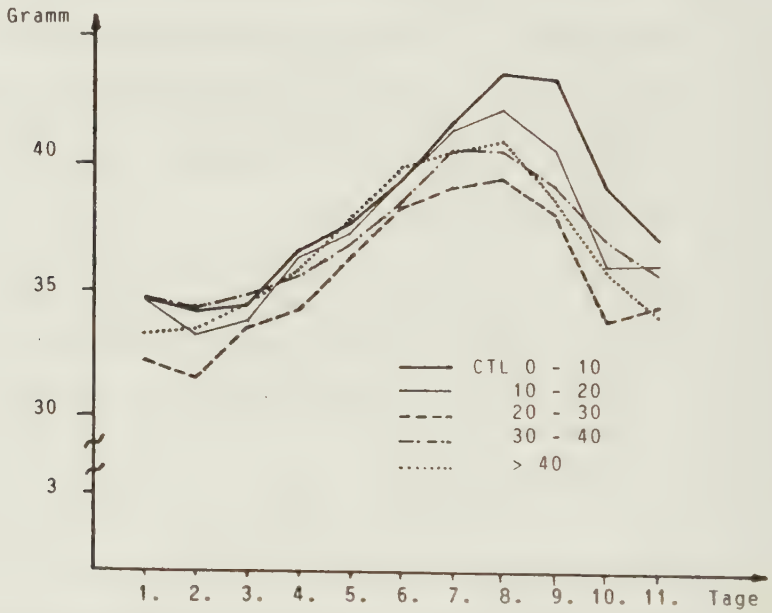


Abbildung 8: Gewichtsverlauf ♂♂ F0, Hohe Linie, Niedere Linie

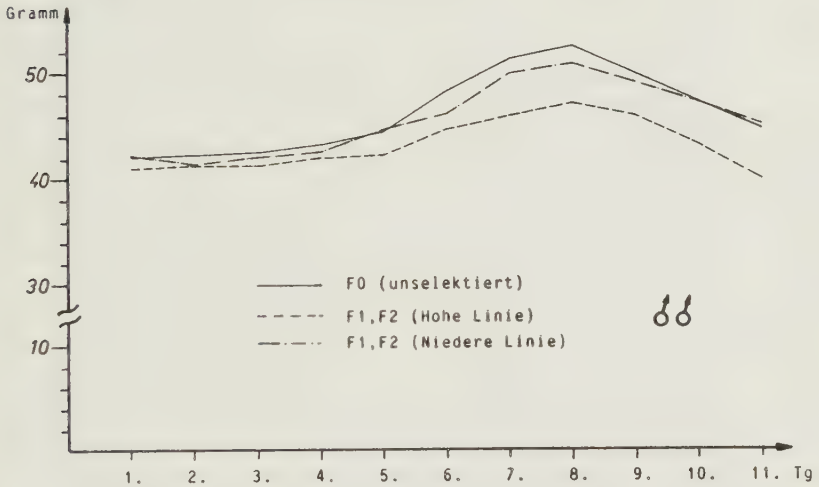


Abbildung 9: Gewichtsverlauf ♀♀ F0, Hohe Linie, Niedere Linie

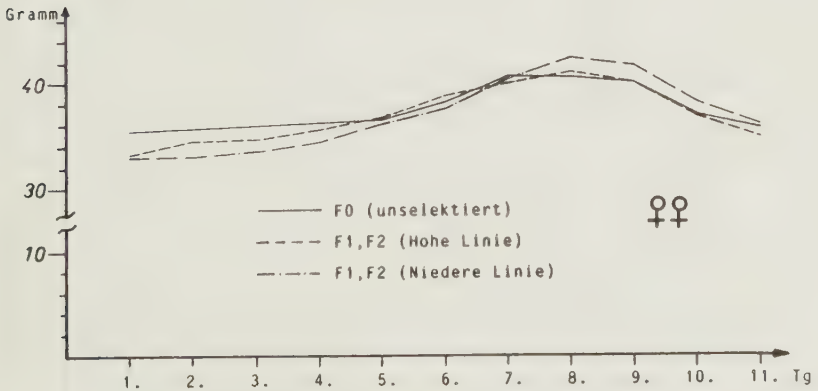


Tabelle 7: Überblick über die Testtiere, die am OP-Tag mit Asciteskontrolle erfaßt wurden

| Gen. Linie              | sex | Ascitesgrade |       |    |       |     |       |     |       |     |       |     |      |     |      |
|-------------------------|-----|--------------|-------|----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|------|-----|------|
|                         |     | -            |       | ±  |       | 1 + |       | 2 + |       | 3 + |       | 4 + |      | 5 + |      |
|                         |     | n            | CTL   | n  | CTL   | n   | CTL   | n   | CTL   | n   | CTL   | n   | CTL  | n   | CTL  |
| F 0                     | ♂   | 1            | 37,13 | 4  | 30,84 |     |       | 2   | 31,56 |     |       | 1   | 8,04 |     |      |
|                         | ♀   | 5            | 18,95 | 11 | 24,60 | 10  | 16,08 | 2   | 17,64 | 4   | 18,70 | 1   | 4,33 | 1   | 2,64 |
|                         | ♂+♀ | 6            | 21,98 | 15 | 26,28 |     |       | 4   | 24,60 |     |       | 2   | 6,18 |     |      |
| F 1<br>+<br>Hoch<br>F 2 | ♂   | 9            | 32,25 | 5  | 28,65 | 15  | 25,68 | 7   | 25,38 | 1   | 53,72 |     |      |     |      |
|                         | ♀   | 7            | 10,87 | 13 | 15,17 | 14  | 22,44 | 9   | 10,25 | 2   | 2,97  |     |      |     |      |
|                         | ♂+♀ | 16           | 22,90 | 18 | 18,91 | 29  | 24,22 | 16  | 16,87 | 3   | 19,88 |     |      |     |      |
| Nieder                  | ♂   | 1            | 15,76 | 12 | 19,22 | 12  | 19,21 | 6   | 8,85  | 2   | 30,00 | 2   | 3,94 |     |      |
|                         | ♀   | 8            | 10,00 | 5  | 2,71  | 11  | 8,30  | 6   | 14,20 | 6   | 7,25  |     |      |     |      |
|                         | ♂+♀ | 9            | 10,64 | 17 | 14,37 | 23  | 13,99 | 12  | 11,53 | 8   | 12,93 |     |      |     |      |
| Total                   | ♂+♀ | 31           | 19,16 | 50 | 19,58 | 62  | 19,06 | 32  | 15,83 | 15  | 15,86 | 4   | 5,06 | 1   | 2,64 |

Tabelle 8 : Gewichtsverlauf ♂♂ und ♀♀ in der F 0, F 1 + F 2 (gepoolt) Hohe u.Niedere Linie

| ♂♂         |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |         |
|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| Gen. Linie | 1.    | 2.    | 3.    | 4.    | 5.    | 6.    | 7.    | 8.    | 9.    | 10.   | 11. Tag |
| F 0        | 42,14 |       | 42,68 | 43,43 | 44,57 | 48,56 | 51,63 | 52,86 |       |       | 44,88   |
| F1F2 H     | 41,14 | 41,47 | 41,45 | 42,11 | 42,54 | 44,88 | 46,04 | 47,3  | 46,04 | 43,49 | 42,11   |
| F1F2 N     | 42,32 | 41,59 | 42,18 | 42,78 | 44,81 | 47,34 | 50,16 | 51,15 | 49,32 | 47,51 | 45,43   |
| ♀♀         |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |         |
| F 0        | 35,52 |       |       |       | 36,51 | 38,18 | 40,82 | 40,71 | 40,18 | 37,19 | 35,86   |
| F1F2 H     | 33,43 | 34,61 | 34,68 | 35,73 | 36,80 | 38,76 | 40,12 | 41,23 | 40,18 | 37,08 | 35,0    |
| F1F2 N     | 33,14 | 33,34 | 33,67 | 34,48 | 36,02 | 37,73 | 40,55 | 42,56 | 41,80 | 38,29 | 36,31   |

Tabelle 9: Gewichtsverlauf der  $\delta\delta$  in Abhängigkeit vom CTL-Index

| CTL   | 1.    | 2.    | 3.    | 4.    | 5.    | 6.    | 7.    | 8.    | 9.    | 10.   | 11. Tag |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---------|
| 0-10  | 42,8  | 42,4  | 42,2  | 43,0  | 45,0  | 47,18 | 50,65 | 52,03 | 51,1  | 49,13 | 46,48   |
| sd    | 3,4   | 2,6   | 2,8   | 1,8   | 3,6   | 4,35  | 5,5   | 5,4   | 6,3   | 5,0   | 4,0     |
| 10-20 | 41,4  | 40,56 | 41,95 | 41,75 | 44,0  | 46,81 | 47,85 | 49,66 | 46,8  | 44,46 | 43,78   |
| sd    | 3,7   | 3,1   | 3,4   | 4,7   | 4,1   | 3,75  | 4,68  | 5,6   | 5,53  | 5,1   | 4,35    |
| 20-30 | 41,23 | 40,62 | 41,3  | 41,9  | 42,68 | 45,6  | 47,66 | 48,38 | 45,66 | 43,72 | 43,1    |
| sd    | 3,06  | 3,11  | 3,05  | 4,03  | 3,7   | 4,09  | 5,48  | 6,58  | 5,78  | 4,9   | 3,41    |
| 30-40 | 40,98 | 40,45 | 41,65 | 42,56 | 43,82 | 47,49 | 48,46 | 49,0  | 45,5  | 42,94 | 42,59   |
| sd    | 3,5   | 3,98  | 4,01  | 3,63  | 4,71  | 6,6   | 7,2   | 7,02  | 7,09  | 4,97  | 4,34    |
| > 40  | 42,53 | 43,55 | 43,3  | 44,0  | 44,15 | 46,27 | 47,87 | 48,84 | 48,08 | 45,33 | 43,43   |
| sd    | 3,55  | 3,15  | 3,83  | 3,4   | 4,07  | 5,27  | 5,56  | 4,64  | 5,04  | 3,91  | 3,51    |

Tabelle 10: Gewichtsverlauf der  $\ddot{q}\ddot{q}$  in Abhängigkeit vom CTL-Index

| CTL         | 1.            | 2.            | 3.            | 4.            | 5.            | 6.            | 7.            | 8.            | 9.            | 10.           | 11.           | Tag |
|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-----|
| 0-10<br>sd  | 34,66<br>3,8  | 34,2<br>2,8   | 34,43<br>3,32 | 36,5<br>4,0   | 37,68<br>4,1  | 39,35<br>4,8  | 41,61<br>5,09 | 43,46<br>5,3  | 43,3<br>5,7   | 39,0<br>4,4   | 37,0<br>4,3   |     |
| 10-20<br>sd | 34,6<br>6,03  | 33,2<br>4,03  | 33,8<br>4,2   | 36,32<br>6,1  | 37,24<br>6,2  | 39,36<br>6,2  | 41,36<br>6,6  | 42,06<br>6,5  | 40,56<br>6,6  | 35,97<br>4,5  | 36,0<br>5,3   |     |
| 20-30<br>sd | 32,24<br>5,11 | 31,5          | 33,5          | 34,25<br>4,98 | 36,28<br>4,78 | 38,15<br>4,22 | 39,06<br>3,84 | 39,46<br>2,91 | 38,0<br>4,17  | 33,81<br>3,20 | 34,43<br>3,36 |     |
| 30-40<br>sd | 34,77<br>1,52 | 34,37<br>1,43 | 34,87<br>2,46 | 35,6<br>2,58  | 36,78<br>3,3  | 38,5<br>3,35  | 40,6<br>3,4   | 40,54<br>3,58 | 39,12<br>4,4  | 37,0<br>3,1   | 35,7<br>2,5   |     |
| > 40<br>sd  | 33,33<br>6,17 | 33,5<br>7,05  | 34,5<br>7,05  | 35,83<br>8,25 | 37,83<br>9,11 | 39,83<br>9,8  | 40,4<br>10,64 | 40,9<br>11,26 | 38,66<br>11,0 | 35,83<br>7,32 | 34,0<br>6,16  |     |

#### 4.2.6. Ergebnisse der Selektionsversuche

Den Erfolg des Selektionsversuches veranschaulicht Abb. 10. Es zeigte sich, daß die Abwärtsselektion erfolgreicher als die Aufwärtsselektion war. Die Abb. 11, 12 und 13 zeigen den Unterschied in der CTL-Aktivität zwischen der Hohen und Niederen Linie gepoolt und getrennt nach Geschlechtern. Tabelle 11 gibt die Generationsmittelwerte, die nach der Zahl der Nachkommen gewichteten Mittelwerte der selektierten Elterntiere, das daraus berechnete Selektionsdifferential und den Selektionserfolg wieder. Weiterhin wurde versucht, die realisierte Heritabilität zu berechnen. Sofern eine Berechnung möglich war, ist das Ergebnis ebenfalls in Tabelle 11 dargestellt.

Die Signifikanz der Unterschiede zwischen der Hohen und Niederen Linie wurde mit Hilfe des "t-Testes" berechnet.

Die Ergebnisse des Signifikanztestes sind in Tabelle 12 dargestellt. Der Unterschied zwischen der Hohen und der Niederen Linie ist in beiden Generationen signifikant (Signifikanzschwelle  $P < 5\%$ ).

Abbildung 10: Selektionserfolg in der Hohen und Niederen Linie  
mit eingetragenen Standardabweichungen

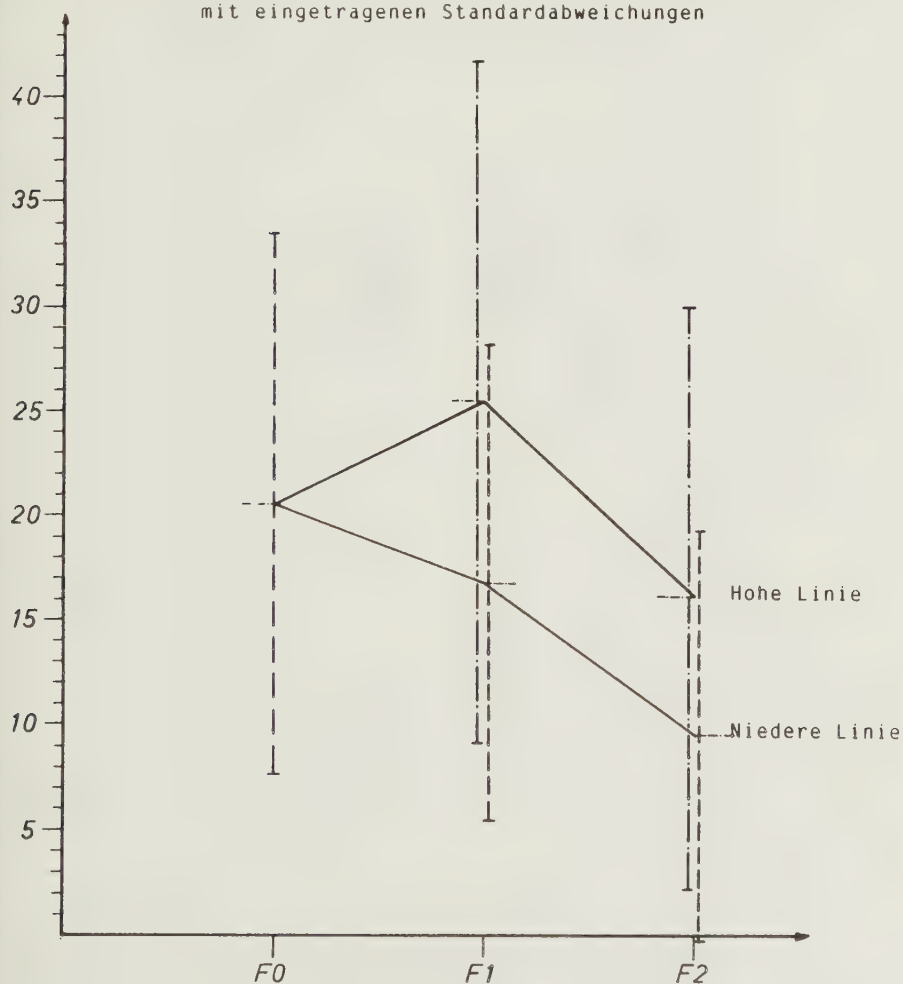


Abb.11: CTL-Aktivität beider Geschlechter in der Hohen und Niederen Linie der F 0, F 1, F 2 Generation

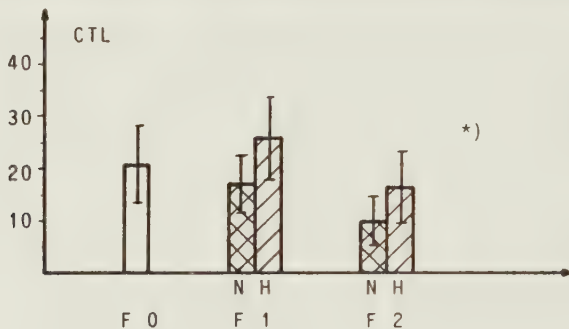


Abb.12: CTL-Aktivität der ♀♀

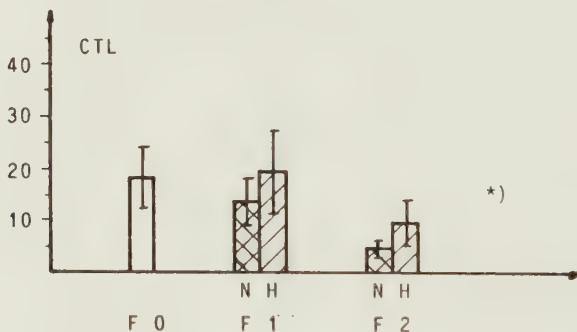


Abb.13: CTL-Aktivität der ♂♂

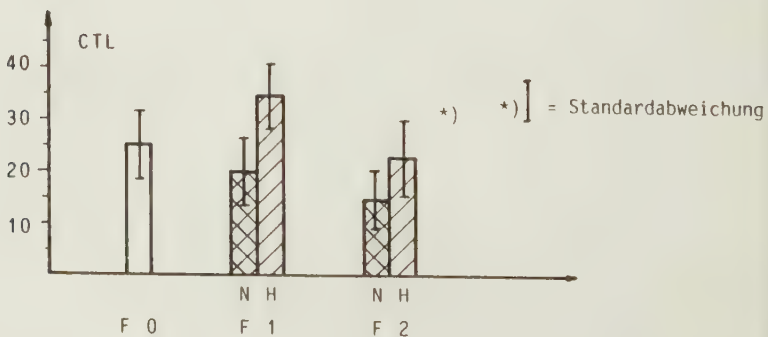


Tabelle 11: Populationmittel, Mittelwert der selektierten Tier, Selektionsdifferential  
Mittlerer phänotypischer Wert der Nachkommen, Selektionserfolg und realisierte Heritabilität bei der Selektion auf CTL-Aktivität

| Linie  | Gen. | Pop-Mittel                | Mittelwert d. Selekt. Tiere | Gewichtetes Selekt. Diff. (SD) | Mittl. Phän. typ. Wert d. Nachkommen | Selektionserfolg (SE) | $h^2 = \frac{SE}{SD}$ |
|--------|------|---------------------------|-----------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Hoch   | F 0  | 20,5761<br>+ 12,9111<br>— | 32,63                       | 11,032                         | 25,5045<br>+ 16,3573                 | 4,93                  | 0,45                  |
|        | F 1  | 25,5045<br>+ 16,3573<br>— | 33,79                       | 11,544                         | 16,1568<br>+ 13,923                  | -9,35                 |                       |
|        | F 2  | 16,1568<br>+ 13,923<br>—  |                             |                                |                                      |                       |                       |
| Nieder | F 0  | 20,5761<br>+ 12,9111<br>— | 8,57                        | -12,998                        | 16,8445<br>+ 11,3957<br>—            | -3,73                 | 0,29                  |
|        | F 1  | 16,8445<br>+ 11,3957<br>— | 19,37                       | 2,282                          | 9,5579<br>+ 9,7745<br>—              | -7,29                 |                       |
|        | F 2  | 9,5579<br>+ 9,7745<br>—   |                             |                                |                                      |                       |                       |

Tabelle 12: Signifikanztest: Hohe-Niedere-Linie

| Gen. | ♀♀                                   | ♂♂                                   | ♀♂                                   |
|------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| F 1  | $t_{40}=1,2955$<br>$(P>5\%)$<br>n.s. | $t_{32}=3,26$<br>$(P<0,5\%)$<br>s.   | $t_{74}=2,5729$<br>$(P<2,5\%)$<br>s. |
| F 2  | $t_{37}=2,1761$<br>$(P<5\%)$<br>s.   | $t_{36}=1,8699$<br>$(P>5\%)$<br>n.s. | $t_{75}=2,4121$<br>$(P<2,5\%)$<br>s. |

n.s. = nicht signifikant

s. = signifikant

## 5. Diskussion

Im Verlauf von drei Generationen wurden Mäuselinien mit hoher und niedriger CTL-Aktivität gegenüber P 815 Mastocy-tomzellen selektiert. Signifikante Unterschiede zwischen beiden Linien zeigten sich bereits in der F1 und in der F2 Generation, falls beide Geschlechter gepoolt betrachtet werden. Bei getrennter Betrachtung unterscheiden sich in der F1 nur die ♂♂ der Hohen und Niedrigen Linie signifikant, während bei den ♀♀ in der F1 kein signifikanter Unterschied besteht. In der F2 verhält sich dies genau umgekehrt. Hier ist der Unterschied zwischen beiden Linien bei den ♀♀ signifikant, nicht dagegen bei den ♂♂. Bei früheren Selektionsversuchen auf Phagozytosevermögen gegenüber kolloidaler Tusche konnten Kräußlich et al. (1975) Unterschiede zwischen der Hohen und Niedrigen Linie ab der F3 zeigen. Buschmann und Meyer, (1981) gelang es bei ihren Versuchen auf Resistenzzucht bei Mäusen, ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen beiden Linien ab der F3 zu zeigen.

Der Selektionserfolg beträgt in den beschriebenen Versuchen in der Hohen Linie von der F0 zur F1 4,93, von der F1 zur F2 -9,35; in der Niedrigen Linie beträgt er von der F0 zur F1 -3,73 und von der F1 zur F2 -7,29. Die Abwärtsselektion verlief erfolgreicher als die Aufwärtsselektion.

Sowohl in der Hohen als auch in der Niedrigen Linie konnten wir Werte für die realisierte Heritabilität von 0,45 bzw. 0,29 berechnen. Ähnliche Koeffizienten konnten auch

bei weiteren immunologischen Versuchen gefunden werden ( Biozzi et al.,1979; Buschmann et al.,1970 ). Dies läßt den Schluß zu, daß es sich hier ebenfalls um ein polygen bedingtes,quantitatives Merkmal handelt, das züchterisch beeinflusst werden kann.

Bei unseren Versuchen wurde in der Aktivität von CTL gegenüber P815 ein Geschlechtsunterschied deutlich, wobei im männlichen Geschlecht die Aktivität der CTL größer ist als im weiblichen. In früheren Untersuchungen über Variationsursachen im Phagozytosevermögen (Meyer et al.,1973) konnten ebenfalls Geschlechtsunterschiede festgestellt werden. Dort war der Selektionsfortschritt aber im weiblichen Geschlecht größer als im männlichen. Unser Ergebnis muß jedoch unter dem Aspekt gesehen werden, daß es sich bei P815 um einen Mammatumor handelt.

Einen Alterseinfluß auf die Aktivität der CTL konnten wir in einem Bereich von 60 bis 258 Tagen nicht feststellen. In Untersuchungen auf physiologische Parameter (Miesel,1978) war bis zum Alter von 50 bis 60 Tagen ein Alterseinfluß festzustellen,danach waren die Parameter konstant. Unterschiedliche Lebenserwartungen zwischen der Hohen und Niedrigen Linie wurden bei Versuchen von Buschmann und Meyer (1981) deutlich. Hier hatten die Tiere der Niedrigen Linie die größere Lebenserwartung.

Ein Zusammenhang zwischen der CTL-Aktivität und der Ascitesbildung bestand nicht. Es hatten zwar fünf Tiere mit starker Ascitesbildung (4+,5+) einen sehr niederen CTL-Wert von 5,06 bzw. 2,64 , dies ist aber gegenüber 195 Tieren mit Ascites-

graden von negativ bis 3+ und CTL-Werten von 15,86 - 19,58 wenig aussagekräftig. Es bleibt weiteren Versuchen überlassen, eine deutliche Abhängigkeit von der Ascitesbildung darzustellen.

Abschließend bleibt zu sagen, daß Selektionsmodelle mit cytotoxischen Zellen im Rahmen der Tumorabwehr eine große Bedeutung haben, und daß Mäuseversuche als Modelle für andere Arten (Mensch und Haustier) sehr wichtig sind.

Bei der Fortsetzung unseres Selektionsversuches ist zukünftig von Bedeutung, ab welcher Zahl der Generationen ein Plateau erreicht wird. Bei Biozzi et al., 1970 war dies bei 7 bis 16 Generationen der Fall.

Weiterhin interessieren die Heritabilitäten und die Zahl der Genloci, die involviert sind. Zudem interessiert, ob andere Immunmechanismen der zellulären und humoralen Abwehr durch Selektion auf Cytotoxizität beeinflußt werden. Schließlich sollte man auf diesem Wege noch erfahren, wie groß die Bedeutung Cytotoxischer T-Lymphozyten im Rahmen der Tumorabwehr ist und ob es möglich ist, auf diese Weise tumorresistente Linien zu züchten.

## 6. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, Mäuse auf Aktivität cytotoxischer T-Lymphozyten gegenüber P 815 Mastocytomzellen zu selektieren. Als Nachweismethode der CTL-Aktivität diente der Chrom-51-Freisetzungstest. Wir selektierten eine Hohe und Niedere Linie bezüglich der CTL-Aktivität.

Bereits nach dem ersten Selektionsschritt in der F1 unterschieden sich die Hohe und die Niedere Linie in der Aktivität ihrer cytotoxischer T-Lymphozyten gegenüber P 815 Mastocytomzellen signifikant, was sich dann in der F2 fortsetzte. Eine Korrelation zwischen der Stärke der Markierung der Zielzellen mit Cr-51 und der CTL-Reaktion konnte nicht festgestellt werden. Ebenfalls konnten keine gravierenden Altersunterschiede (in einem Altersbereich von 60-258 Tagen) in der CTL-Aktivität der Mäuse beobachtet werden.

Unterschiede zwischen beiden Geschlechtern in der CTL-Aktivität wurden in den Untersuchungen deutlich. Die ♀♀ lagen in ihren Werten signifikant niedriger als die ♂♂. Bezüglich der Ascitesbildung konnten keine Geschlechtsunterschiede festgestellt werden. Der Gewichtsverlauf der Tiere während der 11-tägigen Immunisierungsdauer zeigte ebenfalls keine Geschlechtsunterschiede auf. Es waren hier aber Unterschiede in Abhängigkeit von der CTL-Aktivität der Mäuse zu sehen, sowohl zwischen der Hohen und Niederen Linie als auch zwischen Tieren mit hohem und niedrigem CTL-Index. Eine Abhängigkeit der CTL-Aktivität von der Ascitesbildung konnte nicht festgestellt werden.

## 7. Summary

### A selection experiment on cytotoxic activity of T-lymphocytes to P 815 mastocytoma cells in mice.

A selection experiment on cytotoxic activity of T-cells (CTL) to P 815 mastocytoma cells was started in mice. The cytotoxic activity of T-cells was measured by the chromium-51 release test. A line with high responders and a line with low responders were selected. The two lines differed significantly in their cytotoxic activity in already the first generation (F1). There was no correlation between the grade of chromium-51 labelling of the target cells and the cytotoxic activity of the effector cells. Within the range of age observed ( 60-258 days) no significant age influence on the cytotoxic activity of the effector cells was apparent. Sex differences, however, appeared, the males being superior in their CTL-activity. No sex difference was observed in the development of body weight during the immunization period of 11 days. Also the ascites formation was similar in both sexes. The CTL activity was not correlated with the ascites formation in the mice after immunization with target cells. The body weight, however, was correlated with the CTL activity in the mice.

## 8. Literaturverzeichnis

Allison A.C.: 1974

Interaction of Antibodies, Components of Various Cell Types in Immunity against Viruses and Pyogenic Bacteria. Transplant. Rev., 19, 3-55

Allison A.C.: 1978

Mechanism by which activated macrophages inhibit lymphocyte responses. Immunol. Rev., 40, 3-27

Andre' C., Bazin H., Biozzi G.: 1977

IgA antibody response to intragastric immunization in high and low responder lines of mice. Eur. J. Immunol., 7, 246-248

Baldwin R.W.: 1970

Tumour Specific Antigens Associated with Chemically Induced Tumours. Rev. Eur. Etud. Clin. Biol., 15, 593-598

Bakels F.: 1961

Zur Haltung der Maus (*Mus musculus*) im Vererbungsversuch. Tierärztl. Umschau., 16, 187-190

Barlett S.C. and Burton R.C.: 1982

Studies on Natural Killer (NK) Cells. III The effects of in vitro culture on spontaneous cytotoxicity of murine spleen cells. J. Immunol., 128, 1070

Benacerraf B., Unanue E.R.: 1982

Immunologie, W. de Gruyter, Berlin

Biozzi G., Asofsky R., Liebermann R. Stiffel C., Mouton D., Benacerraf B.: 1970

Serum concentrations and allotypes of immunoglobulins in two lines of mice genetically selected for "high" and "low" antibody synthesis. J. Exp. Med. 132, 752-764

Biozzi G., Stiffel C., Mouton D., Bouthillier Y.: 1975

Selections of lines of mice with high and low antibody responses to complex immunogens, in: Immunogenetics and Immunodeficiency (Hsg. Benacerraf B.) MTP Publishing Co., Lancaster, England S. 179-227

Biozzi G., Mouton D., Stiffel C., Sant'Anna O.A., Bouthillier Y.: 1978  
The genetic regulation of antibody responsiveness to natural immunogens  
in relation to the protective effect of vaccination in: Pharmacology of  
immunoregulation (Hsg. G. Werner, F. Floc'h) Academic Press, New York  
123-139

Biozzi G., Mouton D., Sant'Anna O.A., Passos H.C., Gennari M., Reis M.H.,  
Ferreira V.C.A., Heumann A.M., Bouthillier Y., Ibanez O.M., Stiffel C.,  
Siqueira M.: 1979

Genetics of immunoresponsiveness to natural antigens in the mouse. Curr.  
Top. in Microbiol. and Immunol. 85, 31-98

Blum K., Cioli D.: 1978

Behaviour of Biozzi high and low responder mice upon infection with  
*Schistosoma mansoni*. Eur. J. Immunol. 8, 52-56

Brier A.M., Chess L., Schlossmann S.F.: 1975

Human Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity. Isolation and Identifi-  
cation of a Subpopulation of Peripheral Blood Lymphocytes which Kill  
Antibody Coated Antologous Target Cells. J. Clin. Invest. 56, 1580-1586

Brunner K.T., Manel J., Cerottini J.C. and Chapias B.: 1968  
Immunology 14, 181

Burakoff S.J., Weinberger O., Krensky A.M., Reiss C.S.: 1984  
Adv. in Immunology Vol 36, 44-85

Burnet F.M.: 1970

The concept of Immunological Surveillance Progr. Exp.Tumor Res. 13  
1-27, (Karger, Basel)

Burton R.C., Grail D., Warner N.L.: 1978

Natural Cytotoxicity of Haemopoietic Cell Populations Against Murine  
Lymphoid Tumors Br. J. Cancer 37, 806-817

Buschmann H., Schumann H., Lechner U.: 1970

Untersuchungen zur Frage der Erbllichkeit der Phagozytoserate im Blut von Schweinen. Zbl. Vet. Med. B17, 649

Buschmann H., Meyer J.: 1981

Resistenzucht bei der Maus: Etablierung von zwei Mäuselinien, welche auf hohes und niedriges Phagozytosevermögen selektiert worden sind. Zbl. Vet. Med. B28, 713-732

Byfield P.E., Howard J.G.: 1972

Equivalent graft versus host reactivity of spleen cells from two lines of mice genetically selected for high and low humoral antibody formation Transplantation 14, 133-134

Callewaert D.M., Lightbody J.J., Kaplan J., Jaroszewski J., Peterson W.D., Rosenberg J.C.: 1978

Cytotoxicity of Human Peripheral Lymphocytes in Cell-Mediated Lympholysis; Antibody-Dependent Cell-Mediated Lympholysis and Natural Cytotoxicity Assays after Mixed Lymphocyte Culture. J. Immunol. 121, 81-85

Cannat A., Bousquet C., Serre A.: 1978

Rspnse of high and low antibody producers to Brucella. Ann. Immunol. (Inst. Pasteur) 129 C, 669-683

Canter H., Boyse E.A.: 1975

Functional subclasses of T-lymphocytes bearing different Ly antigens. 1. The generation of functionally distinct T cell subclasses in a differentiative process independent of antigen. J.Exp. Med. 141, 1376-1389

Claman H.N. and Mosier D.E.: 1972

Cell-Cell Interactions in Antibody Production. In. Progress in Allergy. Edited by P. Kallos, B. Waksman and A. Deweek. S. Karger, Basel, 40-80

Cleveland R.P., Meltzer M.S., Zbar B.: 1974

Tumor Cytotoxicity in Vitro by Macrophages from Mice Infected with Mycobacterium Bovis Strain BCG. J. Nat. Cancer Inst. 52, 1887-1894

Cradock C.G., Longmire R. and Milian R.Mc.: 1971

Lymphocytes and the Immune Response. New Engl. J.Med. 285, 324-331

Dausset J., Svejgaard A.: 1977

HLA and diseases eds. Munksgaard, Kopenhagen

Del Guerico P., Zola H.: 1972

A comparison of the immune response to DNP in mice genetically selected for high or low antibody synthesis. Immunochemistry 9, 769

Doherty P.C., Zinkernagel R.M.: 1975

A biological role for the major histocompatibility antigens. Lancet 1: 1406-1409

Doria G., Agarossi G., Biozzi G.: 1978

In vitro immune response of spleen cells from mice genetically selected for high and low antibody production. Immunol. 34, 999-1005

Eisbach P.: 1980

Degradation of microorganisms by Phagocytic cells Rev. Infect. Dis.: 106-128

Floc'h F., Werner G.H.: 1978

Comparative studies on susceptibility to some virus infection of mice selected with respect to their antibody responsiveness to an unrelated antigen in Pharmacology of immunoregulation (Hsg. G.H.Werner, F.Floc'h) Academic Press, New York, S. 153-161

Fuensalida-Draper E.: 1980

Chlamydia psittaci infection in lines of mice with high and low antibody responses. Ann. Immunol. (Inst. Pasteur) 131 D, 217-222

Gardener J.D., Narelle A., Bowern and R.V.Blanden: 1975  
Cell-mediated cytotoxicity against ectromelia virus infected target cells. Eur. J. Immuno. 5, 122-127

Götze D.: 1977

The major histocompatibility system in man and animals. Springer Verlag, New York, 406 ff.

Gold P., Freedman S.O.: 1965

Specific Carcino embryonic Antigens of the Human Digestive System. J. Exp. Med. 122, 467-481

Gotze O., Bianco C., Cohn Z.A.: 1979

The induction of macrophage spreading by factor B of the properdin system. J. Exp. Med. 149, 372-386

Greenberg A.H., Shen L. and Riott J.M.: 1973

Clin Exp. Immunol. 15,251

Griffin J.A., Griffin F.M.: 1979

Augmentation of macrophage complement receptor function in vitro.

1. Characterization of cellular interactions required for generation of a T-lymphocyte product that enhances macrophage complement receptor function. J. Exp. Med. 150, 653-675

Hale C., Howard J.G.: 1981

Immunological regulation of experimental cutaneous leishmaniasis.

2. Studies with Biozzi high and low responder lines of mice.

Parasite Immunology 3, 45-55

Hansson M., Bakacs K.K.T., Kiessling R., Klein G.: 1978

Intra- and interspecies reactivity of human and mouse natural killer (NK) cells. J. Immunol. Vol. 121, 7-11

Henney C.S.: 1977

Mechanisms of Tumor Cell Destruction. In: Mechanisms of Tumor Immunity  
Eds.: Green J., Cohen S., Mc Cluskey R.T., John Wiley & Sons,  
New York, London, Sydney, Toronto, 55-86

Herbermann R.B.: 1982

NK-Cells and other Natural Effector cells. Academic Press, Inc.,  
New York

Heumann A.M., Stiffel C.: 1978

Réponse immunologique des souris de lignées bonnes et mauvaises  
productrices d'anticorps envers un antigène non apparenté à  
l'antigène de sélection. Ann. Immunol. (Paris) 129 C, 13-27

Heumann A.M., Stiffel C., Monjour L., Bucci A., Biozzi G.: 1979

Correlation between genetic regulation of antibody responsiveness  
and protective immunity induced by Plasmodium berghei vaccination.  
Infect. and Immun. 24, 829-836

Hibbs J.B., Lambert L.H., Remington J.S.: 1972

In Vitro Nonimmunologic Destruction of Cells with Abnormal Growth  
Characteristics by Adjuvant Activated Macrophages. Proc. Soc. Exp.  
Biol. Med. 139, 1049-1052

Hibbs J.B.: 1976

Role of Activated Macrophages in Nonspecific Resistance to Neoplasia.  
J. Reticuloendothelial Soc. 20, 223-231

Howard J.G., Courtenay B.M., Desaymard C.: 1974

Equivalent responsiveness to branched polysaccharides and their  
dinitrophenyl conjugates in the Biozzi high and low responder lines  
of mice. Eur. J. Immunol. 4, 453-457

Jenkins D.C., Carrington T.S.: 1981

Nematosporoides dubius: the course of primary, secondary and tertiary infections in high and low responder Biozzi mice. Parasitology 82, 311-318

Kaplan A.M., Morahan P.S., Regelson W.: 1974

Brief Communication: Induction of Macrophage Mediated Tumor-Cell Cytotoxicity by Pyran Copolymer. J. Nat. Cancer Inst. 52, 1919-1921

Katz D.H., Benacerraf B.: 1976

The role of the Products of the histocompatibility gene complex in immune response. Academic Press Inc., New York

Keller R.: 1981

Immunologie und Immunopathologie, G. Thieme Verlag Stuttgart, New York,

Kierszenbaum F., Howard J.G.: 1976

Mechanisms of resistance against experimental Trypanosoma cruzi infection: the importance of antibodies and antibodyforming capacity in the Biozzi high and low responder mice. J. Immunol. 116, 1208-1211

Kiessling R., Klein E., Pross H., Wigzell H.: 1975

Natural killer cells in the mouse. II Cytotoxic cells with specificity for Mouse leukemia cells. Characteristics of the killer cell Eur. J. Immunol. 5, 117-121

Klein J.: 1975

Biology of the mouse Histocompatibility-2 Complex. Springer Verlag New York

Klein G., Klein E.: 1977

Immune Surveillance Against Virus-Induced Tumors and Nonrejectability of Spontaneous Tumors: Contrasting Consequences of Host Versus Tumor Evolution. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 74, 2121-2125

Klein J.: 1979

The major histocompatibility complex of the mouse. *Science* 203, 516-521

Kleinschmidt A.: 1983

Ein Selektionsversuch auf Antikörperbildungsvermögen gegenüber DNP-Hapten beim Schwein. *Diss. biol. München*

Kräußlich H., Meyer J., Radzikowski A., Buschmann H., Osterkorn K.: 1975

Selektionsversuch auf Phagozytosevermögen mit Mäusen. *Z. Tierzüchtg. Züchtungsbiol.* 92, 17-26

Kramer J.J., Granger G.A.: 1972

The in Vitro Induction and Release of a Cell Toxin by Immune C57BL/6 Mouse Peritoneal Macrophages. *Cell. Immunol.* 3, 88-100

Lagrange P.H., Hurtrel B., Thick Stun P.M.: 1979

Immunological behavior after mycobacterial infection in selected lines of mice with high or low antibody responses. *Infect. and Imm.* 25, 39-47

Leonard E.J., Skeel A.H.: 1978

Isolation of macrophage stimulating protein (MSP) from human serum. *Exp. Cell. Res.* 114, 117-126

Liacopoulos-Briot M., Bouthillier Y., Mouton D., Lambert F., Decreusefond C., Stiffel D., Biozzi G.: 1972

Comparison of skin allograft rejection and cytotoxic antibody production in two lines of mice genetically selected for high and low antibody synthesis. *Transplantation* 14, 590-596

Liacopoulos-Briot M., Mouton D., Stiffel C., Lambert F., Decreuse-fond C., Bouthillier Y., Biozzi G.: 1974

Réponse à la phytohémagglutinine des lymphocytes des 2 lignées de souris génétiquement sélectionnées pour une forte et une faible synthèse d'anticorps. *Ann. Immunol. (Paris)* 125 C, 393-404

Liebermann R., Stiffel C., Asofsky R., Mouton D., Biozzi G., Benacerraf B.: 1972

Genetic factors controlling antisheep erythrocyte antibody response and immunoglobulin synthesis in backcross and F2 progeny of mice genetically selected for high or low antibody synthesis.

*J. Exp. Med.* 136, 790-798

Lindemann J., Klein P.A.: 1967

Immunological Aspects of Viral Oncolysis Recent Results in Cancer Res. 9, 1-84

Mc Connell J., Munro A., Waldmann H.L.: 1981

The Immune System: A Course on the Molecular and Cellular Basis of Immunity Oxford, England, Blackwell Scientific Publications, chap. 9, 138-155

Mc Devitt H.O., Benacerraf B.: 1969

Genetic control of specific immune responses. *Adv. Immunol.* 11, 31-74

Mc Devitt H.O., Deak B.D., Shreffler D.C., Klein J., Stimpfling J.H., Snell G.D.: 1972

Genetic control of the immune response. *J. Exp. Med.* 135, 1259-1278

Mc Devitt H.O., Bodmer W.F.: 1974

HL-A immune-response genes and disease. *Lancet* II, 1269-1275

Meir Kende Phd.: 1982

Role of macrophages in the expression of immune responses.

*J. of Am. Vet. Med. Ass.*, No.10, 1037-1042

Meyer J., Gindele H. R., Buchegger O.: 1970

Zum Aufbau einiger Inzuchtstämme von albinotischen Laboratoriumsmäusen.  
In: Arbeiten aus dem Institut für Tierzucht, Vererbungs- und Konstitutions-  
forschung der Universität München. Heft 8, 99-122

Meyer J., Kräußlich H., Radzikowski A., Buschmann H., Osterkorn K.:  
1973

Variationsursachen der Phagozytoseaktivität bei Mäusen Z. Tierzüchtg.  
Züchtungsbiol. 90, 94

Meyer J., Kräußlich H., Buschmann H., Radzikowski A., Osterkorn K.:  
1976

Altersbedingte Variationen im Phagozytosevermögen. Z. Tierzüchtg.  
Züchtungsbiol. 93, 255-263

Miesel G.: 1978

Normalwerte bei wachsenden und laktierenden Mäusen Diss. Vet.med.  
München

Miller J.F.A.P., Basten A., Sprent J., Cheers C.: 1971

Interaction Between Lymphocytes in Immune Response. Cell. Immunol. 2,  
469-495

Mizel S.B.: 1980

Biochemical characteristics of macrophage derived lymphostimulatory  
factors, in Hadden J.W., Stewart W.E. (ed): Molecular Mediators of  
Cellular Immunity: Characterization and Actions. Clifton N.J.,  
Human Press

Mouton D., Bouthillier Y., Oriol R., Decreusefond C., Stiffel C.,  
Biozzi G.: 1974

Intensité de la réaction d'hypersensibilité retardée chez les souris  
des lignées sélectionnées 'bonnes' et mauvaises productrices d'anticorps.  
Ann. Immunol. (Paris) 125 C, 581-588

Mozes E., Shearer G.M.: 1972

Genetic control of immune response. Curr. Top. Microbiol. Immunbiol.  
59, 167-200

Moze E., Isac R.: 1976

Antigen specific T cell factors in the genetic control of the immune response to poly-(tyr, glu) poly (pro) poly (lys). *Adv.Exp. Med.Biol.* 66, 547

Nelson D.S. (ed): 1976

*Immunobiology of macrophages*, New York Academic Press

Niaudet P., Greaves M., Horwitz D.: 1979

Phenotypes of "Null" Lymphoid Cells in Human Blood. *Scand.J.Immunol.* 9, 387-393

Nilsson M.R., Sant'Anna O.A., Siqueira M., Nilsson T.T., Gennari M.: 1979

Rabies virus immunity in genetically selected high and low responder lines of mice. *Infect. and Immun.* 25, 23-26

North R.J.: 1972

Importance of thymus-derived lymphocytes in cellmediated immunity to infection. *Cell Immunol.* 7, 166-181

Nossal C.J.V., Abbor M.B., Mitchel J.: 1967

Antigens in immunity. XIV Electron microscopic, radiographic studies of antigen capture in the lymph node medulla. *J. Exp. Med.* 127, 263-275,

O'Brien A., Rosenstreich D.L., Metcalf E., Scher J.: 1980

Differential sensivity of inbred mice ot *Salmonella typhimurium*: a model for genetic regulation of innate resistance to bacterial infection, in: *Genetic control of natural resistance to infection and malignancy* (Hsg.E. Skamene, P.A.L. Kongshavn M. Landy Academic Press London / New York, 101-112

Oriol R., Stiffel C., Mouton D., Bouthillier Y., Decreusefond D., Biozzi G.: 1972

Catabolisme des anticorps chez les souris des lignées génétiquement sélectionnées d'après le caractère "production d'anticorps". *Ann. Inst. Pasteur Paris*, 123, 137

Parr J., Wheeler E., Alexander P.: 1973

Similarities of the Anti-Tumor Actions of Endotoxin, Lipid A and Double-Stranded RNA. Br. J. Cancer 27, 370-389

Perrudet-Badoux A., Binaghi R.A., Biozzi G.: 1975

Trichinella infestation in mice genetically selected for high and low antibody production. Immunology 29, 387-390

Perrudet-Badoux A., Binaghi R.A., Boussac-Aron Y.: 1978

Trichinella spiralis infection in mice: Mechanism of the resistance in animals genetically selected for high and low antibody production. Immunology 35, 519-522

Plant J.E., Glynn A.A.: 1980

Control of resistance to salmonella typhimurium in hybride generations of inbred and Biozzi mice. In: Genetic control of natural resistance to infection and malignancy. (Hsg. E. Skamene, P.A.L., Kongshavn, M.Landy) Academic Press, London / New York, 133-140

Potter M.: 1981

Immunoglobulins M, G and A, in Oppenheim J.J., Rosenstreich D.L., Potter M. (ed): Cellular Functions in Immunity and Inflammation New York, Amsterdam Elsevier / North Holland, 244-245

Prehn R.T.: 1975

Relationship of Tumour Immunogenicity to Concentration of Oncogen. J. Nat. Cancer Inst. 59, 1043-1049

Prouvost-Danon A., Stiffel C., Mouton D., Biozzi G.: 1971

Anaphylactic antibodies in mice genetically selected for antibody production. Immunology 20, 25-27

Prouvost-Danon A., Mouton D., Abadie A., Mevel J.C., Biozzi G.: 1977

Genetic regulation of IgE and agglutinating antibody synthesis in lines of mice selected for high and low immune responsiveness. J. Immunol. 6, 342-348

Reif A.E., Tomas C.: 1980

Quantitative Measurement of the Antigenic Strength and the Degree of Cross Reactivity of Tumors. AACR Abstracts, 1009, 251

Reinherz E.L., Schlossman S.F.: 1980

The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell 19, 821-827

Richards V.: 1980

Cancer Immunology - An Overview. Prog. Exp.Tumor Res. 25, 1-60

Riott J.M.: 1980

Essential Immunology, 4. Auflage, Blackwell Scientific Publications, Oxford

Rosenthal A.S., Shevach E.M.: 1976

The function of macrophages in T lymphocyte antigen recognition. Contemp. Top Immunobiol. 5, 47-90

Rosenthal A.S., Barcinski M.A., Rosenwaser L.J.: 1978

Function of macrophages in genetic control of immune responsiveness. Fed. Prod. 37, 79

Sant'Anna O.A., Bouthillier Y., Siqueira M., Biozzi G.: 1979

Differences in the genetic control of primary and secondary antibody responses. Immunology 37, 849-856

Saijo N., Irimajiri N., Ozaki A., Shimizu E., Niitani H.: 1980

Effect of BCG and ACNU on the Cytostatic Activity of Macrophages in Normal and Tumor-Bearing Rats. Br. J. Cancer 42, 162-167

Saijo N., Shimizu E., Irimajiri N., Ozaki A., Kimura K., Tokizawa T., Niitani H.: 1982

Analysis of Natural Killer Activity and Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity in Healthy Volunteers and in Patients with Primary Lung Cancer and Metastatic Pulmonary Tumors, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 102, 195-214

Sell S.: 1980

Immunology, Immunopathology and Immunity Third Edition. Harper & Row, Publishers, Hagerstown.

Snedecor G.W.: 1956

Statistical Methods. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA

Snell G.D., Dausset J., Nathenson S.: 1976

Histocompatibility. Academic Press, New York

Stiffel C., Mouton D., Bouthillier Y., Heumann A.M., Decreusefond C., Mevel J.C., Biozzi G.: 1974

Polygenic regulation of general antibody synthesis in the mouse. In: Progress in immunology II Bd. II, Biological asp.I. Hsg.: Brent L., Holborow J. North Holland, Amsterdam. 203-212

Tada T., Taniguchi M., David C.S.: 1976

Properties of antigen-specific suppressive T-cell factor in the regulation of the antibody response of the mouse-IV: Special subregion assignment of the gene (s) that codes for the suppressive T-cell factor in the H2 histocompatibility complex. J. Exp. Med. 144, 713-725

Thorn R.M., Palmer J.C. and L.A. Manson: 1974

A simplified 51 Cr-Release assay for killer cells. J. Immunol. Methods 4, 301-315

Tizard Ian R.: 1981

Einführung in die veterinärmedizinische Immunologie. Pareys Studientexte 30

Treves A.J., Schechter B., Cohen J.R., et al.: 1976

Sensitization of T-lymphocytes in vitro by syngeneic macrophages fed with tumor antigens. J. Immunol. 116, 1059-1064

Unanue E.R., Biozzi G., Benacerraf B.: 1974

Immunocytochemical studies on B-lymphocytes from the Biozzi high and low lines of mice selected for their responses to heterologous erythrocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 145, 1243-1249

Vassali J.D., Reich E.: 1977

Macrophage plasminogen activator: Induction by products of activated lymphoid cells. *J. Exp. Med.* 145, 429-437

Vogel S.N., Rosenstreich D.L.: 1979

Defective Fc-receptor mediated phagocytosis in C3H/HeJ macrophages. 1. Correction by lymphokine induced stimulation. *J. Immunol.* 123, 2842-2850

Wiener E., Bandieri A.: 1974

Differences in antigenhandling by macrophages from the Biozzi high and low responder lines of mice. *Eur. J. Immunol.* 4, 457-463

Zinkernagel R.M., Doherty P.C.: 1974

Restriction of in vitro T-cell mediated cytotoxicity in lymphocytic choriomeningitis with in a syngeneic or semi allogeneic system. *Nature* 248, 701-702

Zinkernagel R.M., Doherty P.C.: 1976

The role of major histocompatibility antigens in cell-mediated immunity to virus infections in Baltimor D, Huang AS, Fox CV (ed): *Animal Virology*. New York, Academic Press, Vol.4, 735-750

Zinkernagel R.M., Doherty P.C.: 1976

Major transplantation antigens virus and specificity of surveillance T cells. The altered self hypothesis. *Contemp. Top Immunobio.* 7, 179-220

Zinkernagel R.M., Althage A., Adler B., Blanden R.V., Davidson W.F.,  
Kees V., Dunlop M.B.C., Schreffler D.C.: 1977

H2-restriction of cell-mediated immunity to an intracellular bacterium.  
J. Exp. Med. 145, 1353-1367

Zinkernagel R.M., Doherty P.C.: 1979

MHC-restricted cytotoxic T-cells: studies on the biological role of  
polymorphic major transplantation antigens determining T-cell restric-  
tion-specificity, function and responsiveness.

Adv. Immunol. 27, 51-177

## Lebenslauf

|                  |                                                                                         |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|
| geboren          | 28.02.1954<br>in Ichenhausen/Bayern                                                     |
| Eltern           | Willi Schubert, Handschuhmachermeister, gest. 05.05.1975<br>Marianne Schubert, Hausfrau |
| 1960-1964        | Volksschule Ichenhausen                                                                 |
| 1964-1973        | Dossenberger Gymnasium Günzburg                                                         |
| Mai 1973         | Abitur                                                                                  |
| 1973-1975        | Zeitsoldat, Dienstgrad Leutnant                                                         |
| 1976-1977        | Angestellter beim Landratsamt Günzburg                                                  |
| 1977-1983        | Studium                                                                                 |
| Juni 1983        | Staatsexamen und Approbation                                                            |
| seit 1984        | Dissertation                                                                            |
| Jan.-März 1984   | Assistent bei Dr. Behringer in Gundelfingen                                             |
| Nov.-Dezemb.1984 | Hospitant in der Kleintierklinik von Dr. Streitferd<br>München                          |
| März 1985        | Vertreter in der Großtierpraxis von Peter Schürholz<br>in Unterrohr                     |
| Mai 1985         | Vertreter in der Großtierpraxis von Dr. Kaschub<br>in Ichenhausen                       |
| seit Juni 1985   | Assistent der Großtierpraxis von Johannes Abeln<br>in Seefeld (Pilsensee)               |

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. H. Buschmann und Herrn Prof. Dr. J. Meyer möchte ich an dieser Stelle für die Überlassung des Themas und die jederzeit gewährte fachliche Unterstützung und Beratung bei der Anfertigung dieser Arbeit herzlichst danken.

Herrn Prof. Dr. Dr. hc. mult. A. Mayr danke ich an dieser Stelle für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes am Institut für Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Herrn Prof. Dr. H. Kräußlich bin ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und der Versuchstiere am Lehr- und Versuchsgut in Oberschleißheim zu großem Dank verpflichtet.

Desgleichen danke ich Herrn Prof. Dr. K. Osterkorn für die fachkundige Beratung und Hilfe bei der statistischen Auswertung des Datenmaterials.

Ferner bedanke ich mich bei allen Mitarbeitern des Lehrstuhls für Tierzucht, des Versuchstierlabors am Lehr- und Versuchsgut in Oberschleißheim und des Institutes für Mikrobiologie Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München für die freundliche Hilfe und Unterstützung.

Meinen Geschwistern Ursula und Franz danke ich für die Anfertigung der Reinschrift der Arbeit sowie für die Erstellung der Abbildungen und Tabellen.









